

UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**Prevalencia de anticuerpos para *Mycobacterium avium* subespecie
paratuberculosis en hatos lecheros de la sierra sur del Ecuador
(Azuay - Cañar)**

Tesis de grado previa a la obtención del
título de Médica Veterinaria Zootecnista

AUTORES:

ANA ALEXANDRA CÁRDENAS MOROCHO

ANDREA VERONICA PEÑALOZA CHIMBO

DIRECTOR:

DR. JAIME EDUARDO MALDONADO RIVERA

CUENCA –ECUADOR

2017



RESUMEN

Mycobacterium avium subespecie *paratuberculosis* (MAP) es el agente causal de la paratuberculosis, una enfermedad bacteriana infecto transmisible causante de diarrea profusa y crónica que provoca la muerte del animal por caquexia. El principal objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de anticuerpos frente a MAP en vacas lecheras en las provincias de Azuay y Cañar. El muestreo se realizó en 13 hatos, donde se obtuvieron al azar 400 muestras. Se consideró el análisis de variables independientes tamaño del hato, edad y estado de salud del animal. El estatus serológico se determinó mediante inmuno ensayo enzimático ELISA indirecto. En los hatos se encontró un 30,7 % de animales con anticuerpos frente a MAP. Se obtuvo una prevalencia total de 6%, en la provincia del Cañar 8.72% y en Azuay 3.98%. Según el cálculo de S/P a partir de las densidades ópticas de cada muestra se obtuvieron: 13 sueros ligeramente positivos, 3 fuertemente positivos, 45 sospechosos. El análisis estadístico (chi cuadrado) indica que no existe relación directa entre edad y tamaño del hato frente a la prevalencia de anticuerpos para MAP. En cuanto a la variable estado de salud, vacas con y sin diarrea, se determinó diferencias significativas, existiendo asociación entre vacas con diarrea y la presencia de anticuerpos para MAP. El análisis de regresión logística indicó que el estado de salud es el factor más importante en relación a la presencia de anticuerpos. Estos resultados manifiestan la actividad infectocontagiosa de este patógeno especialmente en vacas con signos clínicos de diarrea.

PALABRAS CLAVE: HATOS LECHEROS, PARATUBERCULOSIS, MYCOBACTERIUM AVIUM *PARATUBERCULOSIS*, ELISA INDIRECTO, DIARREA, PREVALENCIA.



ABSTRACT

Mycobacterium avium subspecies *paratuberculosis* (MAP) is the causative agent of paratuberculosis, a bacterial disease infectious transmissible causing severe diarrhea and chronic causes the death of the animal by cachexia. The main objective of this study was to determine the prevalence of antibodies to MAP in dairy cows in the provinces of Azuay and Cañar. The sampling was carried out in 13 herds, where were obtained at random 400 samples. It is considered the analysis of independent variables size of the herd, age and state of health of the animal. The status serological was determined by immuno assay enzymatic indirect ELISA. In the herds found a 30.7 % of animals with antibodies to MAP. It was obtained a total prevalence of 6% in the province of Cañar 8.72% and in Azuay 3.98%. According to the calculation of S/P from the optical densities of each sample were obtained: 13 sera slightly positive, 3 strongly positive, 45 suspects. The statistical analysis (chi square) indicates that there is no direct relationship between age and size of the herd in front of the prevalence of antibodies to MAP. In regard to the variable health status, cows with and without diarrhea, was determined significant differences exist association between cows with diarrhea and the presence of antibodies to MAP. The logistic regression analysis indicated that the state of health is the most important factor in relation to the presence of antibodies. These results show the activity infectious of this pathogen especially in cows with clinical signs of diarrhea.

KEYWORDS: DAIRY HERDS, PARATUBERCULOSIS, MYCOBACTERIUM AVIUM PARATUBERCULOSIS, INDIRECT ELISA, DIARRHEA, PREVALENCE.



INDICE

INTRODUCCION	1
CAPITULO I	3
1.1 Objetivos.....	3
1.2 Objetivo General.....	3
1.3 Objetivos Específicos.	3
CAPITULO II	4
2. Revisión de la literatura:	4
2.1 Historia.	4
2.2 Etiología.	4
2.3 Epidemiología.....	5
2.4 Transmisión.....	6
2.5 Infección.	8
1) Primer grupo o resistentes a la infección.....	8
2) Segundo grupo	9
3) Tercer grupo	9
2.6 Estados clínicos de paratuberculosis.	9
2.6.1 Infección silente (Estado I).	10
2.6.2 Enfermedad subclínica (Estado II) o adultos portadores.	11
2.6.3 Enfermedad clínica (Estado III).	11
2.6.4 Enfermedad clínica avanzada (Estado IV).	11



2.7 Fenómeno iceberg – Infección en el rodeo.	12
2.8 Factores predisponentes.	14
Factores de riesgo del animal	14
Factores que afectan a la susceptibilidad de la enfermedad de Johne son. .	15
Factores de riesgo ambientales y de explotación.....	16
2.9 Map como agente causal de zoonosis.	16
2.10 Importancia económica.	18
Pérdidas en industria lechera mundial.....	20
2.11 PREVALENCIA INTERNACIONAL.	21
2.12 Diagnostico.....	23
Diagnostico directo.....	23
Técnicas microbianas.....	23
Técnicas moleculares.....	23
Técnicas de diagnóstico anatomohistopatológico.	23
Diagnostico indirecto.	23
ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY).....	24
Estatus serológico a partir de los valores de s/p:	25
Diagnóstico diferencial.	26
2.13 Tratamiento.	27
2.14 Control.....	27



Pruebas de diagnóstico.....	28
Vacunación.....	29
CAPITULO III	29
3. MATERIALES Y METODOS.....	30
3.1 MATERIALES	30
3.1.1Materiales de campo.	30
3.1.2 Materiales de laboratorio.	30
3.2 METODOS.....	32
3.2.1 Área de estudio	32
3.2.2 Tamaño de la muestra.....	34
Objetivo General.....	35
Objetivos Específicos	35
Matriz de conceptualización y operacionalización de las	36
3.2.2 Método de selección.....	37
3.3 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	37
Procedimiento del ensayo.	38
Calculo del resultado de la muestra.	40
Interpretación de los resultados.	40
CAPITULO IV.....	41
4. RESULTADOS	41



Resultados por positividad:	41
Resultados de positividad por cada hato.....	44
CAPITULO V.....	55
5. DISCUSIONES	55
CAPÍTULO VI.....	57
6. CONCLUSIONES	57
CAPITULO VII.....	58
7. RECOMENDACIONES.....	58
CAPITULO VIII.....	59
8. BIBLIOGRAFIA.....	59
CAPITULO IX.....	65
ANEXOS	65
ANEXO 1: Fotografías de campo:.....	65
1.1 Toma de muestras en diferentes haciendas:.....	65
1.2 Varios animales muestreados con prescencia de diarrea:	66
1.3 Recolecta de muestras:.....	66
ANEXO 2: Fotografías de laboratorio	67
2.1 KIT de diagnóstico (Elisa Indirecto) PARACHECK 2 para detección de anticuerpos frente a MAP	67
2.2 Conjugado diluyente Azul.....	67
2.3 Diluyente Verde	68



2.4 Solución STOP	68
2.5 Solución de Sustrato	69
2.6 Lector de Resultados.....	69
ANEXO 3:Resultados de laboratorio correspondientes a cada hacienda.....	70
ANEXO 4:Metodo de la oie prescrito en el diagnostico de paratuberculosis. ...	79
ANEXO 5:Resultados estatus serológico frente al estado de salud	80
Cuadro 5.1 Estatus Serológico General*Presencia Diarrea tabulación cruzada	80
ANEXO 6:Resultados estatus serológico frente a edad	80
Cuadro 6.1: Estatus Serológico General*Edad Vacas tabulación cruzada....	80
ANEXO 7: Resultado estatus serológico frente al tamaño del hato.....	81
Cuadro 7.1 Estatus Serológico General*Tamaño del Hato tabulación cruzada.	81



INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Estados clínicos de paratuberculosis	9
TABLA 2: Características climáticas de la región.....	33
TABLA 3: Resultados de la prueba ELISA indirecto	41
TABLA 4: Resultados de la prueba ELISA indirecto en cañar.....	42
TABLA 5: Resultados de la prueba ELISA indirecto en Azuay.....	43
TABLA 6: Resultados de seropositividad en cada hato.....	44
TABLA 7: Prueba de chi cuadrado	45
TABLA 8: Estimación de riesgo, odds ratio.	46
TABLA 9: Pruebas de chi-cuadrado resultados serológico y edad	47
TABLA 10: Estimación de riesgo para la presencia de anticuerpos en relación a la edad.....	48
TABLA 11: Pruebas de chi-cuadrado	49
TABLA 12: Estimación de riesgo.....	50
TABLA 13: Resumen de procesamiento de casos.....	51
TABLA 14: Codificación de variable dependiente	51
TABLA 15: Codificación de variable categórica	52
TABLA 16: Variables en la ecuación	52



INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Vias de transmisión e infección por Map	7
Figura 2: Fenómeno Iceberg	13
Figura 3: A) Mucosa intestinal de humano con Enfermedad de Crohn B) Mucosa Intestinal de Bovino con Paratuberculosis.....	17

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Estatus serológico en relación al estado de salud, presencia de diarrea, (si o no).....	53
ILUSTRACIÓN 2: Porcentajes del estatus serológico correspondientes a cada hacienda	54



INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Fotografías de campo:	65
Anexo 2: Fotografías de laboratorio	67
Anexo 3: Resultados de laboratorio correspondientes a cada hacienda.....	70
Anexo 4: Metodo de la oie prescrito en el diagnostico de paratuberculosis.	79
Anexo 5: Resultados estatus serológico frente al estado de salud	80
Anexo 6: Resultados estatus serológico frente a edad	80
Anexo 7: Resultado estatus serológico frente al tamaño del hato.....	81



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

Map: *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*

PTBC: Paratuberculosis

EC: Enfermedad de Crohn

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

PP: Porcentaje de positividad

DO: Densidad óptica

S/P: (Lectura de la muestra - Lectura del control negativo) / (Lectura del control positivo - Lectura del control negativo)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Cláusula de derecho de autor

Yo, Ana Alexandra Cárdenas Morocho, autora de la tesis "Prevalencia de Anticuerpos para *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en Hatos Lecheros de la Sierra Sur del Ecuador (Azuay - Cañar)", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinario Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora

Cuenca, 11 de enero del 2017

Ana Alexandra Cárdenas Morocho

C.I: 0104898457



Cláusula de derecho de autor

Yo, *Andrea Verónica Peñaloza Chimbo*, autora de la tesis "Prevalencia de Anticuerpos para *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en Hatos Lecheros de la Sierra Sur del Ecuador (Azuay - Cañar)", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinario Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora

Cuenca, 11 de enero del 2017

Andrea Verónica Peñaloza Chimbo

C.I: 0301923736



Cláusula de propiedad intelectual

Yo, Ana Alexandra Cárdenas Morocho, autora de la tesis "Prevalencia de Anticuerpos para *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en Hatos Lecheros de la Sierra Sur del Ecuador (Azuay - Cañar)", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 11 de enero del 2017

Ana Alexandra Cárdenas Morocho

C.I: 0104898457



Cláusula de propiedad intelectual

Yo, Andrea Verónica Peñaloza Chimbo, autora de la tesis "Prevalencia de Anticuerpos para *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en Hatos Lecheros de la Sierra Sur del Ecuador", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 11 de enero del 2017

Andrea Verónica Peñaloza Chimbo

C.I: 0301923736



AGRADECIMIENTO

Al culminar nuestro trabajo de tesis, primero queremos agradecer a Dios por ser nuestra guía en cada paso durante este largo proceso, así también a todas las personas que aportaron ya sea en pequeña o gran medida para que esta investigación llegue a su feliz término.

Queremos dar un inmenso agradecimiento a nuestro Director de tesis el Dr. Jaime Maldonado Rivera que nos apoyó en todo momento brindándonos de su tiempo y conocimiento sin lo cual no hubiéramos podido alcanzar esta meta. A los profesores miembros de tribunal, Dra. María Encalada, Dr. Antonio Vallecillo y el Dr. Jorge Dután por orientarnos en el desarrollo de este trabajo.

Alexandra C. y Andrea P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

DEDICATORIA

A mis amados padres, por su amor y sacrificio incondicional hacia mí, por ser mi apoyo, mi guía en todo momento, porque son parte fundamental en mi vida y sin ellos nada de esto hubiese sido posible.

A Daniel por estar a mi lado escuchándome en todo momento con sus palabras de aliento y ayudándome en todo lo que podía, por toda la paciencia y amor que me tuvo en esta etapa y ser parte importante de mi vida.

Y a mi amiga y compañera de tesis Andrea por todos los buenos y malos momentos que pasamos juntas para poder alcanzar esta meta.

ALEXANDRA CÁRDENAS M.



DEDICATORIA

A Dios por ser el guía en cada paso de mi vida ya que sin el nada sería posible.

A mi Bisabuelito quien fue mi mayor motivación en esta hermosa profesión porque el cultivo en mí el inmenso cariño hacia los animales

A mi querida Madre por ser el apoyo constante en el transcurso de mi carrera por que más que mi madre es mi compañera de vida con su apoyo y amor incondicional.

A mi amada hija por ser el eje de mi vida para seguir adelante.

Y a mi amiga y compañera de tesis Alexandra por todos los buenos y malos momentos que pasamos juntas para poder alcanzar esta meta.

ANDREA PEÑALOZA C.



INTRODUCCION

La presencia de MAP está asociada con baja producción de leche, descarte precoz, infertilidad, mastitis, bajo peso, inmunosupresión, debilitamiento general, emaciación y muerte, es una importante enfermedad que causa grandes pérdidas económicas. Esta enfermedad tiene distribución mundial y alta prevalencia entre el 20% y 80% de los hatos lecheros en principales países productores, por lo que existen programas nacionales de control establecidos en Australia, Noruega, Islandia, Japón, Países Bajos, Dinamarca, Ontario, Canadá, y EE.UU. (Collins, 2013).

La paratuberculosis bovina (PTBC) plantea dificultades para su control ya que presenta un período de incubación muy largo y en la mayoría de casos la infección es subclínica. Por esta razón se registran menos casos de los que en realidad se presentan, dificultando el conocimiento profundo de esta enfermedad. Por sus síntomas es difícil distinguirla de otras patologías que cursan con episodios de diarrea (Reza & Rojas, 2008).

La mayoría de los animales puede infectarse a edad temprana y la aparición de los signos clínicos puede durar varios años (Linnabary *et al.*, 2001). Se ha comprobado que cada caso clínico o diarreico representa entre 20 a 25 casos subclínicos que también pueden diseminar ampliamente el patógeno (Actualidad Ganadera, 2014).

En Latinoamérica no existe datos precisos sobre el impacto económico de Paratuberculosis bovina. En otros países se estiman pérdidas económicas de US\$ 40 por vaca infectada al año cuando la prevalencia de PTBC no es mayor al 10% y cuando el porcentaje de vacas con signos clínicos en el rebaño es mayor al 10%, el



costo promedio de las pérdidas llegaría a 200 U\$S/vaca. Por esta razón el control de PTBC se considera de suma prioridad (Paolicchi & Romano, 2010).

En el Ecuador no se han desarrollado estudios masivos para determinar el estatus epidemiológico de esta enfermedad, debido principalmente al desconocimiento de su impacto económico, rol como zoonosis y también al costo del diagnóstico. En la mayoría de los hatos ganaderos del Ecuador la PTBC no es una prioridad en los planes y controles sanitarios, en virtud del carácter subclínico y progreso lento, es difícil calcular con precisión las pérdidas en productividad dentro de un hato, por lo que el impacto de esta enfermedad es minimizado o totalmente desconocido.

Al realizar este estudio seroepidemiológico en hatos lecheros de las provincias de Azuay y Cañar ubicadas al sur del Ecuador, pretendemos brindar información actualizada de la PTBC, en las condiciones comunes donde se desarrolla la actividad lechera en nuestro país y poner en evidencia el riesgo de no tener programas de diagnóstico y control para la economía del productor lechero y la salud pública.



CAPITULO I

1.1 Objetivos

1.2 Objetivo General.

Determinar la prevalencia de anticuerpos frente a *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*, mediante ELISA Indirecta en vacas lecheras de 13 diferentes hatos del Sur del Ecuador distribuidos en Azuay y Cañar.

1.3 Objetivos Específicos.

Establecer la sero prevalencia de casos sospechosos, ligeramente positivos, positivos y fuertemente positivos de acuerdo a los resultados del inmunodiagnostico serológico.

Determinar la asociación entre la prevalencia de anticuerpos para *Mycobacterium avium*, subespecie *paratuberculosis* (MAP), con las variables independientes, edad y tamaño del hato.



CAPITULO II

2. Revisión de la literatura:

2.1 Historia.

En 1984 en Alemania (Oldenburg), el médico veterinario Herr Harmes sospecho de un caso de tuberculosis intestinal por lo que envió muestras al laboratorio que fueron examinadas por los doctores HA Johne y L. Frothingham quienes notificaron que la enfermedad observada en la vaca era causada por una bacteria denominada *M. Avium* causante de la tuberculosis en aves y la llamaron enteritis Pseudotuberculosa (Actualidad Ganadera, 2014). En el año 1910 FW Trowt cumplió los postulados de Koch para el crecimiento de MAP en laboratorio y la reproducción experimental de la enfermedad en vacas infectadas (Harris & Barletta, 2001).

2.2 Etiología.

Mycobacterium avium subespecie paratuberculosis (Map) es el agente causal de una gastroenteritis severa en rumiantes conocida como enfermedad de Johne (Zapata, Rodas, & Maldonado, 2008). Es una bacteria Gram positiva, aerobia, acido-alcohol resistente con crecimiento óptimo a una temperatura de 37 °C, crece lentamente, necesita varias semanas de incubación antes que sus colonias se detecten en medios de cultivo (Retamal, Beltran, Abalos, Quera, & Hermoso, 2011).

MAP es un patógeno intracelular facultativo debido a su incapacidad para producir micobactina (producto químico necesario para transportar hierro) solo puede crecer y multiplicarse en el citoplasma de las células hospedadoras de animales infectados (Zapata *et al.*, 2008) , intracelularmente consigue alterar la maduración fagosomal,



evitar acidificación progresiva y posteriormente fusión con lisosomas (Retamal *et al.*, 2011).

MAP no es capaz de crecer en ambientes extracelulares, sin embargo después que la materia fecal es expulsada por los animales infectados es posible encontrarlo en pastos y agua siendo estas dos importantes vías de transmisión, también se ha aislado el MAP de protozoos, lombrices de tierra, dípteros, cucarachas, interviniendo en su dispersión (Zapat *et al.*, 2008), en estos organismos desarrolla un estado de vida intracelular que dependerá de iguales mecanismos de virulencia de infección del macrófago hasta llegar a la célula blanco del hospedero animal (Retamal *et al.*, 2011).

2.3 Epidemiología.

La enfermedad de Johne o PTBC es una enfermedad infecciosa, crónica, debilitante generalmente fatal que afecta especialmente rumiantes, pero puede infectar otras especies animales incluyendo humanos (Iowa State University, 2010). Entre los rumiantes, la PTBC es una infección común del ganado lechero ya que está estrechamente relacionada con los tipos de explotación y manejo, siendo más frecuente en animales bajo condiciones de estabulación (Holzmann *et al.*, 2004).

Esta enfermedad es de distribución mundial y se ha expandido principalmente por el comercio de animales. Se reportó por primera vez en Europa, en la actualidad existen reportes en todos los continentes (Collins *et al.*, 2010). Suecia y algunos estados de Australia están libres de Paratuberculosis (Iowa State University, 2010).

El comercio de animales infectados es la principal forma de diseminación, pero la transmisión fecal oral cobra importancia ya que por cada gramo de heces se pueden



excretar millones de unidades formadoras de colonias dependiendo de la fase de la enfermedad (Avila, Cruz, & Blando, 2005)

2.4 Transmisión.

Vía fecal oral: En un 80 % de los casos PTBC se adquiere por la ruta fecal-oral (Traversa *et al.*, 2005), por la ingestión de alimento contaminado con materia fecal (Zapata *et al.*, 2008).

Debido a que el periodo de incubación es largo resulta importante conocer el periodo de transmisibilidad, pues los animales pueden excretar gérmenes por las heces durante 15 a 18 meses antes que aparezcan los primeros signos clínicos (Otto, Clive, Henneth, & Blood, 2001).

Los animales infectados excretan MAP directamente en la leche durante etapas posteriores de la infección, por tanto, el consumo de leche es una importante vía de transmisión (Collins & Manning, 2010).

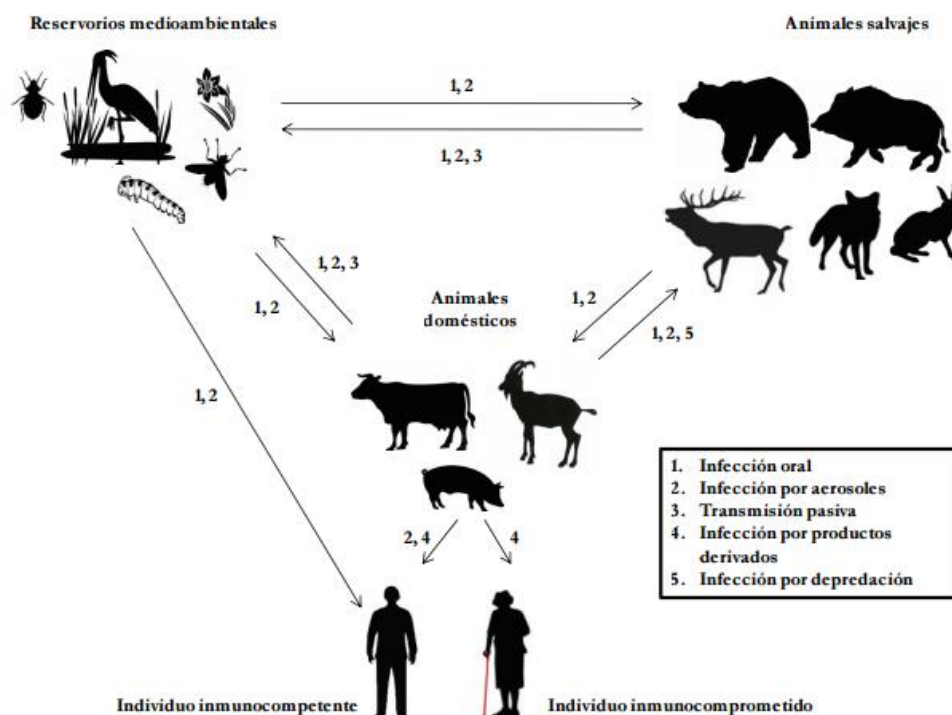
Vía intrauterina: La mayoría de animales se infectan antes del nacimiento a través del útero y placenta cuando los microorganismos de MAP se dispersan en los tejidos del cuerpo penetrando la placenta e infectando a fetos o mediante la transmisión de embriones con lavados uterinos de vacas infectadas (Linnabary *et al.*, 2001).

A pesar de que se ha reportado la transmisión intrauterina durante los últimos estadios de gestación y se ha aislado el bacilo del endometrio de hembras gestantes y no gestantes con forma clínica o subclínica de la infección y de fetos provenientes de vacas infectadas, no se han reportado hasta el momento abortos debidos a esta enfermedad (Zapata *et al.*, 2008).

Infección fetal: Se ha demostrado que 20-40% de fetos de animales sintomáticos de PTBC son infectados en el útero por MAP. La transmisión en animales que no presentan signos es menor y está alrededor del 8%. La probabilidad de infección en útero tiene relación directa con la severidad de la infección la cual está asociada con la cantidad de organismos en las heces y esto es demostrado porque la mayoría de los fetos infectados provienen de animales excretores fuertes (Espinosa, 2007).

Este germen puede ser cultivado a partir del calostro (22%) y de leche (8%) de animales con heces positivas e infección subclínica, lo que hace posible que los terneros se infecten al poco tiempo de nacer al consumir el calostro y la leche (Radostis *et al.*, 2001).

Figura 1: Vías de transmisión e infección por Map



Fuente: (Castellanos, 2010)



2.5 Infección.

El curso de esta enfermedad depende de la edad, estado inmunitario y la resistencia del animal afectado. Después de la infección oral de MAP se establece en la mucosa del intestino delgado (sitio primordial de multiplicación bacteriana), nódulos linfáticos y en menor cantidad en amígdalas y nódulos linfáticos supra faríngeo y es captado por las células M en las placas de Peyer, lo cual parece ser acelerado por los anticuerpos calostrales que se hallan en el lumen intestinal (Ávila *et al.*, 2005).

Los macrófagos captan a las bacterias liberadas por las células M y así ocurre la diseminación en el cuerpo del animal, clínicamente inaparente. En esta fase de infección se producirá una reacción humoral temporal, luego de esto se produce lesiones en el yeyuno distal e Íleon dando lugar a una enteritis crónica (Ávila *et al.*, 2005).

MAP puede estar viable en el medio ambiente hasta 1 año. En condiciones naturales el periodo de incubación es de 2 años pudiendo ampliarse hasta 10 años (Avila, Cruz, & Blando, 2005). Algunos animales desarrollan resistencia eliminando el microorganismo sin presentar signos de la enfermedad. El progreso de las lesiones en las paredes del intestino dará lugar al síndrome de mala absorción o absorción de nutrientes retardada (Linnabary *et al.*, 2001).

La infección se puede clasificar en tres grupos según la relación huésped –agente:

1) **Primer grupo o Resistentes a la infección:** aquellos animales que desarrollan rápidamente una resistencia al germen, controlan la infección y no se vuelven portadores contaminantes.



2) **Segundo grupo:** Aquellos animales donde la infección no está completamente controlada, algunos la controlan, pero excretan gérmenes de forma intermitente, mientras que otros se encuentran en estados intermedios, incuban la enfermedad y excretan grandes cantidades del germen.

3) **Tercer grupo:** el germen perdura en la mucosa intestinal, en estos animales surgen los casos clínicos: malabsorción, diarrea crónica, hipoproteínemia, baja condición corporal y edema (Radostis *et al.*, 2001)

2.6 Estados clínicos de paratuberculosis.

La Infección de MAP presenta cuatro estados de la enfermedad:

**Tabla 1:** Estados clínicos de paratuberculosis

ESTADO	TIPO DE ANIMAL INFECTADO	ANIMALES AFECTADOS
IV	Enfermedad Clínica Avanzada: adultos	1*
III	Enfermedad Clínica: adultos	1-2
II	Enfermedad Subclínica: portadores adultos	4-8
I	Infección Silenciosa: terneros, animales jóvenes y adultos	10-14
	Total de cabezas de ganado afectadas	15-25*

Fuente: (Zapata *et al.*, 2008).

2.6.1 Infección silente (Estado I).

En animales infectados que no presentan ningún signo clínico y aparentemente son iguales al resto de los animales. En este estado comprende: becerros, vaquillas y animales jóvenes menores de dos años, la infección es detectable en sus tejidos por cultivo o examen histopatológico. El avance hacia la segunda etapa dura meses o años (United States Department of Agriculture, 2013)



2.6.2 Enfermedad subclínica (Estado II) o adultos portadores.

Los animales infectados no presentan signos, pero son portadores de MAP por lo que son un peligro de infección, existe una alteración de la respuesta inmune celular y están afectados por otras enfermedades como infertilidad o mastitis; eliminan el agente por heces, pero sólo 15 a 25% son detectados por los medios de cultivo. Estos animales son detectados por las técnicas usadas corrientemente y algunos avanzan al estado III de la afección (Zapata *et al.*, 2008).

2.6.3 Enfermedad clínica (Estado III).

El inicio de este estado se asocia con periodos de estrés, los animales presentan pérdida gradual de peso (a pesar de un apetito normal o en ocasiones aumentado). En pocas semanas la consistencia de la materia fecal es más fluida e intermitente, diseminando millones de microorganismos de MAP conllevando a la pérdida de peso en el que algunos animales se recuperan, pero recaen en otro periodo de estrés. Muchos animales en este estado pueden ser detectados por las pruebas comerciales de ELISA e inmunodifusión en gel de agar (AGID) (Castellanos, 2010).

2.6.4 Enfermedad clínica avanzada (Estado IV).

Conforme la enfermedad progresa, se incrementa la letargia, debilidad y emaciación. Los animales presentan edema intermandibular debido a la hipoproteínemia. La caquexia y la diarrea caracterizan el estado terminal de esta enfermedad (Castellanos, 2010). Muchos animales se eliminan del hato antes de esta etapa debido a su deterioro, baja producción de leche, pérdida severa de peso. Los animales destinados a sacrificio no son aprobados para consumo. La muerte sucede como resultado de la deshidratación y caquexia (Zapata *et al.*, 2008).



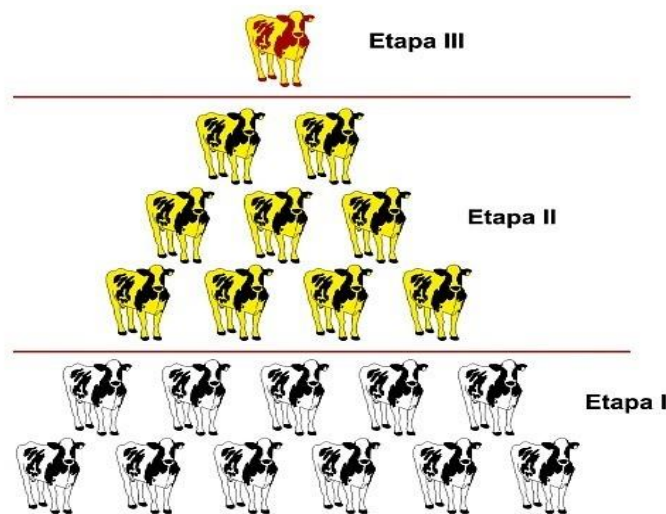
2.7 Fenómeno iceberg – Infección en el rodeo.

Este fenómeno iceberg permite reconocer el impacto de la enfermedad de Johne dentro de un hato indicando que, si la infección persiste sin diagnosticar, ascenderá progresivamente el número de animales infectados.

Mientras más grande sea el hato más grande será el riesgo de presentar la enfermedad de Johne:

- Dentro de un hato por cada animal que presente signos clínicos representativos del Estado III, habrá muchos otros animales en estados iniciales de la enfermedad
- Por cada caso clínico evidenciado del Estado III de esta enfermedad, puede haber 15 a 25 animales infectados en otros estadios
- De esta manera se indica que por cada caso clínico solo se expone la punta de iceberg de la infección
- La duración de cada etapa de infección depende de edad, exposición y cantidad de organismos ingeridos (United States Department of Agriculture, 2013).

Figura 2: Fenómeno iceberg (Por cada vaca en Etapa III, usted debe esperar: 1-2 vacas más en Etapa III (clínicamente enferma) 6-8 vacas en Etapa II (adultas portadoras inaparentes)).



Fuente: (United States Department of Agriculture, 2013).

En un hato de 100 vacas en producción, con la presencia de dos casos clínicos es posible la presencia de 20 a 30 animales infectados en otros estadios, y menos de la mitad de infectados serán detectados en cultivo fecal. Si existe de 25 a 30 positivos en cultivos fecales en el análisis total del hato (100 adultos), se sospecha un 50 % de infección total (Whitlock & Buergelt, 1996).



2.8 Factores Predisponentes.

Factores de riesgo del animal

Edad del animal: La característica distintiva de MAP es que la infección se adquiere en animales muy jóvenes por lo general menores a 30 días, pero los signos clínicos no aparecen hasta los 3 a 5 años de edad. No obstante, en el caso de terneros criados con vacas nodrizas infectadas, la enfermedad clínica puede presentarse de 12 a 18 meses de edad (Radostis *et al.*, 2001).

Raza del animal: Comparando con razas lecheras, las razas de carne comprenden mayores áreas de terreno y están menos expuestas al contacto con otro ganado y con sus heces es así que la prevalencia de la infección es menor en razas de carne. La raza Holstein es predominante en estados unidos, por lo que la enfermedad es más común en esta raza que en cualquier otra (Radostis *et al.*, 2001).

Carencias nutricionales: La deficiencia de Cu y de Se podrían afectar negativamente al sistema inmunológico del bovino y con ello la capacidad de respuesta a la infección con Map aumentando la predisposición a la enfermedad (Maria, Daniel, Fresneda, & Ipaguirre, 2005).

Características del rebaño: Utilizando un modelo de simulación de paratuberculosis para examinar la evolución de la enfermedad en un rebaño de vacas lecheras.

En el estadio inicial del modelo se especifican siete variables:

- Tamaño del rebaño
- Índice anual de nacimientos.
- Índice anual de reposición de animales.



- Número de vacas infectadas en el momento cero.
- Número de reposiciones adquiridas cada año.
- Riesgo de adquirir novillas infectadas.
- Numero de contactos efectivos entre vaca y ternero al año.

Todas estas variables afectan a la diseminación de la paratuberculosis en los rebaños, pero este modelo es sobre todo sensible al índice de contactos efectivos. Por lo tanto, las recomendaciones para el control de la enfermedad de Johne son reducir al máximo el contacto entre vaca y ternero (Radostis *et al.*, 2001).

Procedencia de los animales: La prevalencia de MAP aumenta con la compra de animales procedentes de hatos con moderado índice de infección anual, que acabara provocando infecciones en el rebaño y representando un factor en el curso de una epidemia, ya que cada año puede quedar una vaca infecciosa dentro del hato, la cual aporta de forma exponencial a la generación de terneros infectados aumentando el número de reposición de animales enfermos (Radostis *et al.*, 2001).

Factores que afectan a la susceptibilidad de la enfermedad de Johne son.

- Tamaño de carga infectiva
- Nivel de ingestión férrica en la dieta
- Edad del animal
- Factores de estrés (traslados, parto, deficiencias o exceso nutricionales)
- Supresión inmunitaria como el agente causal de Diarrea Viral Bovina (DVB)



- Los animales estabulados corren mayor riesgo de infección debido a la intensa contaminación de las heces y a la larga supervivencia de las bacterias en sitios protegidos (Avila, Cruz, & Blando, 2005)

Factores de riesgo ambientales y de explotación.

Atención a terneros recién nacidos: Esto se refleja en el grado de higiene para la recogida de los calostros de la parturienta. Si se retira al ternero antes que pase una hora de su nacimiento en lugar de dejarlo con la madre durante 8 a 12 horas se reducirá la exposición del mismo al medio cargado de heces del lugar del parto.

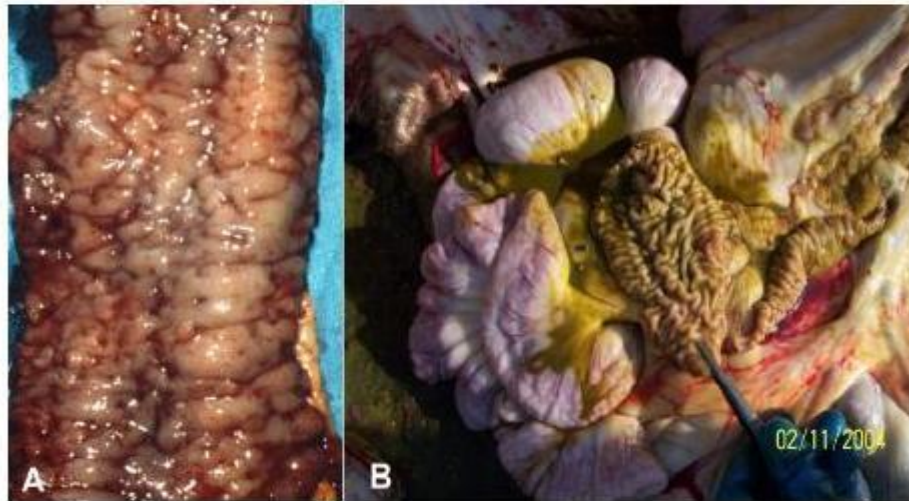
Manejo de estiércol: La limpieza e higiene general de la granja y el nivel de contaminación tienen relación con la prevalencia de la enfermedad, debido a defectos en el método de mantenimiento y localización de las instalaciones y la frecuencia de limpieza (Radostis *et al.*, 2001).

Atención y cuidado de terneros durante su crecimiento: Hace relación a la forma de alimentación del ternero durante su crecimiento. Es decir, evitar el contacto de recién destetados con el estiércol de vacas adultas para limitar nuevas infecciones (Radostis *et al.*, 2001).

2.9 MAP como agente causal de zoonosis.

El interés científico se incrementa al discutir el vínculo entre la enfermedad de Crohn que es una enfermedad crónica inflamatoria intestinal de los seres humanos en relación con la enfermedad de Johne en rumiantes, siendo importante su papel en salud pública (Stabel, Sweeney, Washington, & Wells, 2005)

Figura 3: A) Mucosa intestinal de humano con Enfermedad de Crohn (EC) B)
Mucosa intestinal de bovino con Paratuberculosis



Fuente: (Cirone, Morsella, Romano & Paolicchi, 2007)

MAP ha sido asociado con la enfermedad de Crohn en humanos (EC), por ser una enfermedad de desorden sistémico, caracterizada por: malestar, dolores abdominales, pérdida de peso, diarreas crónicas e inflamación crónica del intestino, con una apariencia macroscópica similar a la que se observa en bovinos con PTBC (Cirone *et al.*, 2007). La enfermedad de Crohn comienza entre los 16 y 25 años, y persiste durante toda la vida. No existe cura (Iowa State University, 2010).

La exposición humana frente a MAP es plausible por varios factores: infecciones de la dieta, fabricación de alimentos, factores ambientales, otros no identificados, desregulación inmune, influencia de una predisposición genética (Stabel *et al.*, 2005).

Rutas potenciales de exposición humana:



- Los productos alimenticios, incluyendo leche de vaca pasteurizada se sugieren como posibles fuentes de infección en humanos (Chacon, Bermudez, & Barletta, 2004).
- Ingestión de leche cruda de vacas lecheras infectadas.
- Consumo de agua proveniente de aguas superficiales y cercanas a granjas lecheras que pueden presentar la infección.
- Carne molida procedente de ganado lechero infectado y sacrificado.
- Cortes de carne procedentes de ganado infectado con MAP (Collins & Manning, John's Information Center, 2010).

2.10 Importancia Económica.

Los efectos de PTBC conllevan a una baja eficiencia, por lo que Jonson & Kaneene en 1997, manifiestan que las pérdidas globales ocasionadas por MAP son la consecuencia a dos mecanismos fisiológicos: 1) alteración de la inmunidad celular 2) balance energético negativo por mala absorción de nutrientes en el intestino. También se manifestó que hay una limitación para calcular el costo de esta enfermedad por la dificultad para detectar la infección, debido a la baja sensibilidad de pruebas de diagnóstico pudiendo presentarse falsos negativos (Ávila, Blando & Cruz, 2005).

El impacto económico de MAP dentro de un hato se presenta de manera lenta e inadvertida en el transcurso de varios años. Un estudio de investigación reveló que la pérdida promedio total con animales que pueden o no presentar signos clínicos de la enfermedad pueden alcanzar \$ 800.00 dólares por vaca al año (United States Department of Agriculture, 2013).



Pérdidas económicas directas: son pérdidas por disminución de la producción, costo de medicamentos, diagnóstico y tratamiento, muerte del ganado infectado, baja fertilidad (Suanes , Nuñez, Piaggio, & Gil , 2006).

Pérdidas económicas indirectas: se generan por restricciones comerciales, movimiento de ganado, disminución del precio de la tierra, aumento de costos de manejo y mantenimiento del estatus sanitario, pérdida de mercado (Jorge *et al.*, 2005).

Pérdidas Inaparentes: son costos ocultos originados por:

- Incremento de descartes por animales infectados o con signos clínicos.
 - Mayor susceptibilidad a otras enfermedades.
 - Baja eficiencia alimenticia.
 - Aumento de servicios veterinarios.
 - Incrementan costos de reemplazo.
 - Menor producción de leche en animales infectados, pero aparentemente normales.
 - Desvalorización de la canal de un 20% o 30%.
 - Baja posibilidad de selección de animales para reemplazos disponibles
- (United States Department of Agriculture, 2013).

Pérdidas ocasionadas por la baja producción de leche:

Dinsmore encontró que animales positivos a paratuberculosis demostraron un aumento en la incidencia de mastitis y una disminución del 4% en la producción. Bennet en 1999 indica la pérdida de PTBC es igual al resultado de multiplicar, la



incidencia de la enfermedad, por población en riesgo, por porcentaje de disminución de la producción láctea, por producción láctea promedio, por precio de leche (Avila, Cruz, & Blando, 2005).

Animales con signos clínicos pueden disminuir la producción de leche hasta un 25%, vacas de alta producción siendo infectadas, pueden ser descartadas antes del pico de producción o segunda gestación (Avila, Cruz, & Blando, 2005). Los gastos anuales de un animal con infección subclínica equivalen a la producción perdida por el valor de un litro de leche (Hasonova & Pavlik, 2006).

Pérdidas en industria lechera mundial

MAP provoca considerables pérdidas productivas a la industria lechera de los Estados Unidos las que se estiman económicamente entre \$ 200 a 250 millones de dólares anuales (Groenendaal, Zagmutt, & Patton, 2015). Como promedio entre los rebaños afectados por MAP van entre \$ 22 a US \$ 27 por vaca (Ott, Wells, & Wagner, 1999).

MAP infecta 5-10% del ganado lechero y aproximadamente el 33% de los rebaños lecheros de los EE. UU (Dorshorst, Collins, & Lombard, 2006). En Wisconsin más de un tercio de rodeos con algún nivel de infección, la estimación económica supera los 100 millones de dólares por año y por animal infectado con signos clínicos o asintomático se ha calculado en 800 Dólares (Jorge *et al.*, 2005).

En Nueva Zelanda, 1989 las pérdidas de producción lechera fueron del 22% ocasionadas por la enfermedad subclínica y 52% del total de pérdidas fueron ocasionadas por la enfermedad clínica de PTBC. Las pérdidas en la producción de leche por vaca al año fueron calculadas en \$1616 dólares. En la industria de ganado



de carne se estiman pérdidas anuales de \$62.000 dólares totales o \$670 por vaca (Ávila *et al.*, 2005).

En Canadá en un rodeo de 50 vacas con PTBC se manifestó que las pérdidas directas son de 2472 dólares al año (Jorge *et al.*, 2005).

En Buenos Aires las pérdidas estimadas son para la cuenca del Salado de \$ 8 a 22 millones y son de \$6, 3 millones para cuencas lecheras. En un estudio realizado en el año 2003 se estimó una pérdida de 47,600 pesos para un rodeo de 330 vientres con la muerte provocada por paratuberculosis llegando a una 6.3% de mortalidad (Jorge *et al.*, 2005).

En Australia, cuando la prevalencia es igual o mayor al 10%, el costo promedio de las pérdidas alcanzaría los 200 U\$S por vaca (Oña & Cajilema, 2012).

2.11 PREVALENCIA INTERNACIONAL.

La prevalencia es una estimación de un número de animales analizados siendo positivos y divididos para el número total de animales muestreados (Lombard, 2011). La prevalencia de la infección en una región determinada es difícil de estimar debido a la poca información de los casos reales (Radostis *et al.*, 2001).

En Europa la prevalencia oscila entre un 7% a 55%, en Estados Unidos un 40% de los rodeos de más de 300 cabezas están infectados (entre 11% y 18% de portadores subclínicos). En Italia en los años 2000-2001 se realizó un monitoreo de los hatos lecheros, encontrándose que el 65 % de estos, fueron positivos a la infección, siendo la prevalencia en animales positivos del 3.5 % (Ávila *et al.*, 2005).



En Australia la prevalencia esta entre 9% - 22% en hatos lecheros. En Venezuela no se realizan pruebas rutinarias para el diagnóstico de PTBC, por lo que se desconoce un porcentaje de animales infectados, a pesar que se reconoce la existencia de la enfermedad desde 1970. En Monagas se ha confirmado mediante clínica y hallazgos histopatológico (Oña & Cajilema, 2012).

En Argentina según datos recogidos por INTA indican la seroprevalencia varía entre el 7.2 % a 20 % (esta es más elevada en los campos de cría de la cuenca del Salado, Provincia de Buenos Aires).

En Asturias se realizó un estudio con varias técnicas diagnósticas en animales sacrificados hallando una prevalencia 44,4%, el 39,6% exhibieron lesiones de tipo focal. Se determinó la presencia de PTBC en 16 hatos lecheros mediante la técnica ELISA, de los cuales solo en un hato no se detectó PTBC, mientras que la prevalencia de los 15 hatos fue del 11.32% (Prieto, 2010).

En México, año 1994 Morales realizó un estudio en ganado de lidia muestreando 40 animales, encontrando que el 30% de estos animales eran positivos. En 2003, Santillán, encontró una prevalencia en un estado de Guanajuato de 30.6 % en ganado lechero y de 25 en ganado de doble propósito. Otro estudio realizado por Miranda, encontraron que la prevalencia de la enfermedad en Tizayuca, Hidalgo, es de 8.87 %. (Ávila *et al.*, 2005).

Por tal motivo el control de esta enfermedad se considera de alta prioridad, para lo cual la aplicación de planes estatales de control se considera estratégico en países desarrollados. (Cirone, Morsella, Romano, & Paolicchi, 2007)



2.12 Diagnostico.

Existen varias pruebas de diagnóstico que presentan ventajas y desventajas (Collins, 2013). La selección de la prueba apropiada, la aplicación y la interpretación son indicadores para el diagnóstico. Es fundamental que el laboratorio sea de reconocida reputación y que esté sometido a pruebas estándar de eficiencia de tal forma que los resultados que produzcan sean confiables (Disney & Regino, 2005).

Diagnostico directo.

La identificación directa del microorganismo causante de PTBC se puede obtener mediante varias técnicas de diagnóstico (Gilardoni, Paolicchi, & Mundo, 2012).

Técnicas Microbianas.

Bacterioscopia, cultivo bacteriano, microscopia fluorescente, bioluminiscencia.

Técnicas Moleculares.

Detección de material genético (Muestras para PCR y variantes de PCR convencional), combinación de la concentración microbiana y PCR, hibridación in situ (ISH).

Técnicas de Diagnóstico Anatomohistopatológico.

Diagnostico Anatomohistopatológico, diagnostico Histopatológico,
Inmunohistoquímica (IHC)

Diagnostico indirecto.

Mediante este diagnóstico se detecta la respuesta inmune del animal dependiendo de las diferentes etapas subclínicas (Gilardoni, Paolicchi, & Mundo, 2012).

Respuesta inmune celular (Pruebas en vivo - intradermorreacción (IDR), Pruebas In vitro – detección de Interferón Gamma)



Respuesta Inmune Humoral (fijación de complemento, agar inmunodifusión en gel, ensayo de Inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).

ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY).

ELISA es una técnica de ensayo basada en placas, para detectar y cuantificar péptidos, proteínas, anticuerpos y hormonas. En ELISA, un antígeno debe inmovilizarse en una superficie sólida y luego completarse con un anticuerpo que está unido a una enzima. La detección se realiza evaluando la actividad de la enzima conjugada mediante incubación con un sustrato para producir un producto medible. El elemento más crucial de esta estrategia de detección es una interacción anticuerpo-antígeno altamente específica.

La técnica ELISA se ejecuta en placas de poliestireno de 96 pocillos (o 384 pocillos), que se unirán pasivamente a anticuerpos y proteínas. La unión e inmovilización de los reactivos hace que ELISA sea fáciles de diseñar y realizar. Tener los reactivos del ELISA inmovilizados en la superficie de la microplacas hace que sea fácil separar el material unido a no enlazado durante el ensayo.

La capacidad para lavar materiales no específicamente unidos hace que el ELISA sea una potente herramienta para medir analitos específicos dentro de una preparación cruda (Xia, 1993).

El kit de ELISA usa la relación entre los valores de densidad óptica de las muestras y el control positivo, donde el resultado se designa con el indicador S/P que es una medida cuantitativa del nivel de anticuerpos presentes en las muestras. Estos valores



de S/P son usados para evaluar la cantidad de animales infectados clasificándolos en categorías según el nivel de anticuerpos detectados en el suero

$S/P = (DO \text{ de la muestra} - DO \text{ del control negativo}) / (DO \text{ del control positivo} - DO \text{ del control negativo})$ (Collins & Manning, John's Information Center, 2010).

El diagnóstico de MAP mediante el ensayo inmuno–enzimático o ELISA es utilizado principalmente en bovinos, ovinos y caprinos. Hoy en día existen paquetes comerciales para realizar el diagnóstico de paratuberculosis, pero el inconveniente es que son de importación y su precio es elevado, razón por lo cual no se lleva a cabo el diagnóstico de forma rutinaria en los laboratorios de salud animal (Martínez *et al.*, 2012).

VENTAJAS DEL ELISA

Fácil proceso de automatización, brinda resultados rápidos, proporciona alta sensibilidad (80%) y especificidad (94%), repetibilidad de la prueba, interpretación objetiva de resultados, posibilidad de evaluar múltiples muestras juntas, ofrece la posibilidad de modificar el punto de corte de acuerdo con la sensibilidad o la especificidad requerida.

ESTATUS SEROLOGICO A PARTIR DE LOS VALORES DE S/P:

Fuertemente positivo: son valores de S/P de entre 1,00 - 10,00 que indican altos niveles de anticuerpos frente a MAP, la enfermedad se encuentra en etapas avanzadas, donde la bacteria es liberada en heces y leche, dentro del programa y protocolo de control el animal debe ser descartado inmediatamente.



Positivo: (0,40 – 0,99) Se expresan moderados niveles de anticuerpos séricos y el animal puede estar diseminando la bacteria en heces y leche. Estos animales no deben entrar en programas de reproducción, no se debe usar su leche para la alimentación de terneras descartar al final de la lactancia.

Positivo Débil: (0,25 - 0,39) bajos niveles de anticuerpos frente, pero con altas probabilidades que el animal este infectado. Estos animales se pueden mantener en el hato hasta un siguiente examen cuando tenga entre 200 y 300 días en lactancia, si se observan signos clínicos de la enfermedad se debe realizar un nuevo test inmediatamente, no se debe usar su leche para la alimentación de terneras.

Sospechoso: (0,10 – 0,24) expresa bajos niveles de anticuerpos, pero se halla por encima de los niveles normales de anticuerpos e indica que estos animales pueden estar en etapas iniciales de la enfermedad. Estos animales se pueden mantener en el hato, no se debe usar su calostro, deben reexaminarse cuando estén entre los 200 y 300 días de la nueva lactancia.

Negativo: (0 – 0,09) no se detectan niveles de anticuerpos, (Collins & Manning, Johne's Information Center, 2010).

Para el control de esta enfermedad es necesario realizar exámenes cada 6 meses hasta no encontrar ningún animal sospechoso.

Diagnóstico Diferencial.

Parasitismo gastrointestinal, peritonitis, amiloidosis renal, Linfosarcoma, insuficiencia renal, salmonelosis crónica, otras enfermedades infecciosas crónicas



(Salmonelosis, Colibacilosis, Diarrea Viral Bovina), deficiencia de cobre y desnutrición (Iowa State University, 2010).

2.13 Tratamiento.

El tratamiento es económicamente no viable (Jorge *et al.*, 2005), se podría aplicar antibióticos de uso humano usados para tratar la tuberculosis humana como el caso de Isoniazida o Rifampicina que pueden actuar contra la bacteria, pero las lesiones originadas por la enfermedad serían irreversibles (Actualidad Ganadera, 2014).

El tratamiento puede ser aplicado en animales valiosos de compañía teniendo en cuenta que el gasto será considerable y renunciar a los ingresos por la venta de leche o carne del animal tratado, el tratamiento no cura la enfermedad solo mejorará la condición clínica y probablemente al animal recibirá la terapia toda su vida (Linnabary *et al.*, 2001).

2.14 Control.

La eficacia del control de MAP depende en cómo se pueda afrontar las fuentes de infección y vías de transmisión, considerando que MAP es viable para hasta 250 días en el medio ambiente (agua, heces,) (Harris & Barletta, 2001). Un programa de control para que sea efectivo necesita de tiempo y continuos controles (Collins & Manning, Johne's Information Center, 2010). Las estrategias de control requieren pruebas de diagnóstico de todo el rebaño, bioseguridad del hato, prácticas de gestión (Dorshorst, Collins, & Lombard, 2006).



Pruebas de diagnóstico.

La principal forma de prevención es la prueba de hato mediante ELISA, cultivos fecales que son métodos usualmente utilizados ya que detectan niveles de anticuerpos a la infección y la presencia de bacterias vivas (Harris & Barletta, 2001).

Se debe tener en cuenta que una prueba de diagnóstico no será suficiente por lo que ninguna prueba es 100% efectiva (Gasque, 2008). Por lo que la combinación de estas dos pruebas antes mencionadas sería ideal en la detección de animales infectados por MAP (Harris & Barletta, 2001).

Las prácticas de gestión significativas del hato son:

- Limpieza general de la granja
- Manejo del estiércol y evitar la contaminación de pastizales
- Restricciones de contacto entre animales adultos y terneros (Harris & Barletta, 2001).
- La eliminación de animales con diarreas crónicas y más aún si no responden a ningún tratamiento
- Los animales recién nacidos deben ser protegidos de la infección por haber nacido y criados en un entorno limpio y suministro de leche y agua libres de contaminación (Collins & Manning, John's Information Center, 2010).
- Los animales adultos infectados con MAP se deben identificar y aislar con el fin de evitar que los animales jóvenes queden expuestos a la leche o el estiércol contaminados (Collins & Manning, John's Information Center, 2010).



Prácticas de bioseguridad:

- Evitar el ingreso o traslado de ganado entre diferentes explotaciones sin previo diagnóstico
- Periodos de cuarentena
- Realizar la compra de ganado ya sea nacional o extranjero pero libre de PTBC (Gasque, 2008).

Vacunación.

Las vacunas contra MAP, son de uso restringido, estas ayudan controlando la enfermedad, pero no impiden la propagación de nuevos casos, y en ocasiones puede interferir en programas de erradicación que se basan en detección y posterior eliminación de infectados (OIE, 2008).

Vacuna mycopar: Es una Bacterina de células completas de MAP suspendidas en aceite, Dosis: 0.5 ml a cada becerro durante los primeros 35 días de nacido, se inyecta en el tercio medio del pecho). La gran desventaja es que reacciona a las pruebas de diagnóstico.



CAPITULO III

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materiales de campo.

Biológicos:

- 400 Bovinos en producción

Físicos:

- Botas
- Overol
- Cámara fotográfica
- Jeringuillas
- Tubos de ensayo
- Algodón
- Marcador
- Esferográfico

3.1.2 Materiales de laboratorio.

Biológicos:

- 400 Muestras de suero de bovino
- Kit ELISA Indirecto (Casa comercial PARACHEK °2)



Químicos

- Conjugado anti bovino HRPO conservado contimerosal
- Solución de sustrato TMB
- Solución stop
- Muestra de diluyente, verde
- Conjugado diluyente, azul
- Solución de lavado (20X)

Físicos:

- Centrífuga
- Micropipeta de 10 a 100 μ l
- Micropipeta de 100 a 1000 μ l.
- Micropipeta multicanal de 10 a 100 μ l.
- Refrigerador
- Congelador
- 400 Tubos Eppendorf
- 400 tubos de ensayo
- Guantes descartables
- 800 Puntas descartables para micropipeta



- 5 placas recubiertas *MAP* antígeno
- Control positivo
- Control negativo
- Microscopio
- Micro lector de Elisa
- Agitador de placas
- Cámara fotográfica
- Cámara de video
- Lavadora de microplacas
- Computador
- Impresora
- Material de escritorio

3.2 METODOS

3.2.1 Área de Estudio

La investigación se realizó en 13 diferentes hatos lecheros distribuidos en Azuay y Cañar, Provincias pertenecientes al sur del Ecuador, en donde se concentra una gran parte de la producción lechera del país.



Características climáticas:

Tabla 2: Características Climáticas de la Región

	AZUAY	CAÑAR
CLIMA	Ecuatorial Mesotermico Semi Húmedo	En altas mesetas, Mesotermico, húmedo y Semi húmedo al interior de la provincia tropical monzón en las partes bajas de estribaciones occidentales
TEMPERATURA	13° c y 14° c	11.18°c
PRECIPITACION:	940mm/año	636mm/año
HUMEDAD RELATIVA	75%	73.8 %
ALTITUD	2500 m.s.n.m	3.160 m.s.n.m.
AREA	Sierra Sur	Sierra Sur
AGROECOLOGICA	Ecuatoriana	Ecuatoriana

Fuente: (MAGAP, 2002), (INFOPLAN, 2005), (IRHA, 2006)



3.2.2 Tamaño de la Muestra.

La muestra y el método del muestreo.

El muestreo será dirigido hacia hembras bovinas lecheras, correspondiendo a 252 animales, considerando la fórmula para cálculo de la muestra poblaciones finitas.

$$n = \frac{N * Z^2 * p * (1-p)}{(N-1) * e^2 + Z^2 * P * (1-p)}$$

Donde:

n = El tamaño de la muestra que queremos calcular

N = Tamaño del universo (730 vacas en producción)

Z = Nivel de confianza 95% -> Z=1,96

e = Es el margen de error máximo que admito (5%)

p = Es la proporción que esperamos encontrar. (50%)

$$n = \frac{730 * 1.96^2 * 0.5 * (1-0.5)}{(730-1) * 0.05^2 + 1.96^2 * 0.5 * (1-0.5)} = 252$$

La población objeto de este trabajo fue de 652 vacas en lactancia, correspondientes a los 13 hatos en estudio. La muestra mínima calculada fue de 252 animales. Se seleccionaron al azar 400 muestras pues se contaba con un kit de diagnóstico para 400 determinaciones, ya que un mayor número muestral disminuye notablemente el error y da mayor seguridad a los resultados. El método de muestreo utilizado fue aleatorio simple probabilístico, mediante un randomizador electrónico (<https://www.randomizer.org/>), se consideró el 65% de los animales de cada predio.



Objetivo General

Determinar la prevalencia de anticuerpos frente a *Mycobacterium Avium* subespecie paratuberculosis, mediante ELISA Indirecta en vacas lecheras de 13 diferentes hatos del Sur del Ecuador distribuidos en Azuay y Cañar.

Objetivos Específicos

Establecer la sero prevalencia de casos sospechosos, ligeramente positivos, positivos y fuertemente positivos de acuerdo a los resultados del inmunodiagnostico serológico.

Determinar la asociación entre la prevalencia de anticuerpos para *Mycobacterium avium*, subespecie *paratuberculosis* (MAP), con las variables independientes, edad y tamaño del hato.



Matriz de conceptualización y operacionalización de las variables

	Variables	Tipo de variables	Escala de medición de las variables	Definición	Indicadores	Valor final	Técnicas e instrumentos	Fuente
X₁	Edad	Cualitativa	Ordinal	Categoría de las vacas que las define en grupos según edad.	Años cumplidos.	Jóvenes (Vacas de 2-4 años) Adultas > 6 años	Observación hoja de campo	Registros del hato
X₂	Número de animales Población del hato	Cualitativa	Ordinal	Categoría del hato según el número de animales en producción de leche	Numero de vacas en ordeño	Pequeños (hasta 30 vacas en ordeno) Medianos (de 31 a 60 vacas en ordeño) Grandes (> de 60 vacas en ordeño)	Observación Hoja de campo	Registros del hato
X₃	Historial de enfermedad diarreica	Cualitativa	Nominal	Presencia actual o reciente de enfermedades que cursan o cursaron con diarrea	Diarrea o historial reciente de diarrea, cola y flancos manchados con heces	SI NO	Observación Hoja de campo	Registros del hato y hoja de campo
Y₁	Estatus serológico	Cualitativa	Ordinal	Categoría de las vacas según su estatus serológico	Densidad óptica de la muestra	Negativos Sospechosos Ligeramente positivos Positivos Fuertemente positivos	ELISA indirecto Hoja de laboratorio	Resultados de laboratorio



3.2.2 Método de selección.

- Para la extracción de las muestras en el campo se realizó de la siguiente manera
- Rotulación identificación del tubo
- Sujeción del animal
- Desinfección y protección de manos
- Levantando la cola del animal en posición vertical
- Desinfección de la zona
- Palpación de la vena coccígea en el área medial ventral de la cola en las primeras vertebrae coccígeas
- Colocar la aguja con el capuchón
- Insertar la aguja en una profundidad de 8-10 mm en ángulo recto, posteriormente colocar el tubo al vacío.
- Mantener estable la inserción de la aguja hasta consumir el vacío y retiramos el tubo.
- Retiramos la aguja y ejercer presión sobre la zona de punción.
- Desechar los materiales contaminados en una funda roja
- Desechar los guantes usados.

3.3 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La detección de anticuerpos para Map se realizó mediante ELISA indirecto (Mycobacterium paratuberculosis Test Kit PARACHEK 2 ®)



Principio del Ensayo

El método utilizado se describe en el Manual Terrestre de la OIE de 2012 Vol. 1, capítulo 2.1.11 Paratuberculosis (Enfermedad de Johne)

El test consiste en cuatro pasos:

Paso 1: Las muestras de suero son diluidas e incubadas en diluyente verde contenido *M. phlei* para eliminar los anticuerpos que puedan dar lugar a reacciones cruzadas.

Paso 2: Las muestras diluidas se añaden a los pocillos recubiertos con antígeno de *M. paratuberculosis*. Los anticuerpos no específicos se eliminan mediante un paso de lavado después de la incubación.

Paso 3: El conjugado (IgG antibovina marcada con peroxidasa) reacciona con las inmunoglobulinas unidas al antígeno y el sobrante se elimina mediante lavado después de la incubación.

Paso 4: Adición de sustrato e incubación. La velocidad de conversión del sustrato es proporcional a la cantidad de inmunoglobulina presente.

Paso 5: Se detiene la reacción con la aplicación de la solución de parada (stop).
Lectura de la absorbancia con un espectrofotómetro para placas de 96 pocillos.

Procedimiento del Ensayo.

1. Atemperar todos los componentes del kit (excepto el conjugado).
2. Diluir las muestras del suero 1/20 en diluyente verde en una placa de trabajo.

Mezclar bien ya sea con pipeta con agitador de placas al menos un minuto a velocidad moderada. Reacción entre la muestra y el diluyente verde puede mantenerse desde un minuto hasta 24 horas.



3. Transferir 100ul de las muestras test y de los controles de la placa de trabajo a los pocillos correspondientes de la placa test tapizada con M. paratuberculosis.
4. Cubrir e incubar 30+-3 minutos a temperatura ambiente (22+-3 °c). El conjugado 100x concentrado deberá diluirse a la dilución de uso una vez terminada el paso de lavado.
5. Vaciar los pocillos y lavar tres veces con 300ul solución de lavado. Se recomienda usar un lavador automático de placas con un programa apropiado de lavado. En caso de lavado a mano, se recomienda tener precaución de no contaminar los pocillos adyacentes. Sacudir los pocillos lo suficientemente para eliminar la solución de lavado después de cada ciclo de lavado. Después del último ciclo de lavado. Situar las placas boca abajo sobre un papel de filtro limpio material similar para eliminar la solución de lavado de los pocillos.
6. Añadir 100ul de conjugado recién diluido, a cada pocillo y agitar la placa.
7. Tapar las placas e incubar a temperatura ambiente (22+-3°C) durante 30+-3 minutos.
8. Lavar según procedimiento descrito en el paso 5
9. Añadir 100ul de la solución de sustrato recién preparada en cada pocillo.
10. Tapar las placas, agitarlas e incubarlas a temperatura ambiente (22+-3°C) durante 15 – 20 minutos.
11. Añadir 50 ul de la solución de frenado a cada pocillo. Luego mezclar agitando cuidadosamente.



12. Leer a 450 nm, y utilizar 620 nm como longitud de onda de referencia en los 30 min siguientes de haber parado la reacción. Los valores de absorbancia serán utilizados para el cálculo de resultados.

Calculo del resultado de la muestra.

% Positividad (PP) de la muestra = $(DO \text{ muestra} - DO_{cn}) / (DO_{cp} - DO_{cn}) * 100$

DO_{cp}= media de los valores del control positivo

DO_{cn} = media de los valores del control negativo

El porcentaje de positividad (% P, PP) del control positivo se considera el 100%

Interpretación de los resultados.

Una muestra bovina es POSITIVA si su valor de Porcentaje de Positividad es SUPERIOR o IGUAL al valor del cut off de 15 % de porcentaje de Positividad (%P).

Una muestra bovina es NEGATIVA si su valor de Porcentaje de Positividad es menor que el valor de cut off de 15% Porcentaje de Positividad (%P).



CAPITULO IV

4. RESULTADOS

El análisis de los datos obtenidos de la prueba de Elisa Indirecto nos da los siguientes resultados:

Resultados por positividad:

Tabla 3: Resultados de la prueba ELISA Indirecto

Resultado	N°	%
Positivo	23	5.75
Negativo	377	94.25
Total	400	100

Fuente: Autores

En un total de 400 sueros bovinos, se obtuvieron 23 sueros positivos, lo que corresponde a una seroprevalencia del 5.75% y 377 sueros bovinos negativos que corresponden a una 94.25%.



Tabla 4: Resultados de la prueba ELISA indirecto en Cañar

Hacienda	Numero de muestras	Positivas	Negativas
López Burgay	9	0	9
Crespo	49	0	49
Esmeralda	80	13	67
Hacienda B	11	0	11
Total	149	13	136

Fuente: Autores

Lo que indica este cuadro es que la sero prevalencia positiva es de 8.72%, con 13 casos positivos y la sero prevalencia negativa es de 91.27% con 136 casos negativos de un total de 149 muestras.

**Tabla 5:** Resultados de la prueba ELISA indirecto en Azuay

Hacienda	Numero de muestras	Positivas	Negativas
Nero	31	0	31
Irquis	18	0	18
Peralta	7	0	7
Córdova	17	0	17
Moscoso	20	0	20
Tutupali	68	2	66
Vélez	24	1	23
Cumbesa	57	0	57
Ullaguari	9	7	2
Total	251	10	241

Fuente: Autores

Lo que indica este cuadro es que la sero prevalencia positiva es de 3.98%, con 10 casos positivos y la sero prevalencia negativa es de 91% con 241 casos negativos de un total de 251 muestras.

**Resultados de positividad por cada hato.****Tabla 6:** Resultados de Seropositividad en cada hato

N° de hacienda	Nombre de la hacienda	N° de sueros analizados	N° de sueros positivos	% por hato
1	López	9	0	0
2	Nero	31	0	0
3	Irquis	18	0	0
4	Peralta	7	0	0
5	Córdova	17	0	0
6	Moscoso	20	0	0
7	Vélez	24	1	4.16
8	Tutupali	68	2	2.94
9	Crespo	49	0	0
10	Esmeralda	80	13	16.25
11	Ullaguari	9	7	77.77
12	Cumbesa	57	0	0
13	Hacienda B	11	0	0

Fuente: Autores

Esto nos indica que el 30,7 % de los hatos muestreados tienen animales con anticuerpos para MAP, La prevalencia individual de los hatos oscila entre el 2,94 y 77,7%.



Tabla 7: Prueba de chi cuadrado

	Valor	Gl	Sig. Asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi- cuadrado de Pearson	85.324	1	,000		
Corrección de Continuidad	78.767	1	,000		
Razón de Verosimilitud	47.284	1	,000		
Prueba exacta de Fisher	85.110	1	,000	,000	,000
Asociación lineal por Lineal	400				
N de casos validos					

Fuente: Autores



La presentación de anticuerpos para MAP es diferente entre las vacas con y sin diarrea. Existiendo asociación entre la variable estado de salud y el estatus serológico. En las vacas con diarrea es posible encontrar anticuerpos para Map con mayor frecuencia.

Tabla 8: Estimación de riesgo, Odds ratio.

	Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
		Inferior	Superior
Odds ratio para Estatus Serológico General (Positivo / Negativo)	,036	,014	,094
Para cohorte Presencia Diarrea = No	,371	,212	,650
Para cohorte Presencia Diarrea = Si	10,245	6,283	16,703
N de casos válidos	400		

Fuente: Autores

El análisis de oportunidad, Odds ratio (0,036), indica que las vacas con diarrea y sin diarrea tienen la misma oportunidad para presentar anticuerpos para MAP. Por tanto, el factor de riesgo diarrea no tiene impacto en el estatus serológico. Una vaca con



diarrea tiene la misma oportunidad de presentar o no presentar anticuerpos para MAP.

Tabla 9: Pruebas de chi-cuadrado resultados serológico y edad

	Valor	Gl	Sig. asintótica (2 caras)	Sig. exacta (2 caras)	Sig.exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	2, 692a	1	,101		
Corrección de continuidad^b	1,831	1	,176		
Razón de verosimilitud	3,566	1	,059		
Prueba exacta de Fisher				,148	,077
Asociación lineal por lineal	2,685	1	,101		
N de casos válidos	400				

Fuente: Autoras



El valor $p: 0,101$ es mayor $\alpha (0,05)$, por tanto, los anticuerpos para MAP se pueden detectar de la misma manera en vacas jóvenes y adultas, no existiría asociación entre la variable edad y el estatus serológico.

Tabla 10: Estimación de riesgo para la presencia de anticuerpos en relación a la edad.

	Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
		Inferior	Superior
Odds ratio para Estatus Serológico General (Positivo / Negativo)	,214	,028	1,617
Para cohorte edad Vacas = jóvenes	,248	,036	1,710
Para cohorte edad Vacas = Adultas	1,160	1,050	1,280
N de casos validos	400		

Fuente: Autores

El análisis de oportunidad, Odds ratio (0,214), indica que las vacas jóvenes y adultas tienen la misma oportunidad para presentar anticuerpos para MAP. Por tanto, el factor de riesgo edad no tiene impacto en el estatus serológico. Las vacas viejas tienen la misma oportunidad para presentar o no presentar anticuerpos para MAP.

**Tabla 11:** Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	Gl	Sig. asintótica (2 caras)	Sig. Exacta (2 caras)	Sig. exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	,031 ^a	1	,860		
Corrección de continuidad^b	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitud	,031	1	,860		
Prueba exacta de Fisher				1,000	,526
Asociación lineal por lineal	,031	1	,860		
N de casos válidos	400				

Fuente: Autores

El valor p: 0,860 es mayor alfa (0,05), por tanto, los anticuerpos para MAP se pueden detectar de la misma manera en hatos pequeños y grandes, no hay asociación entre la variable tamaño del hato y el estatus serológico.

**Tabla 12:** Estimación de riesgo

	Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
		Inferior	Superior
Odds ratio para Estatus Serológico General (Positivo / Negativo)	,924	,382	2,234
Para cohorte Tamaño del Hato = Pequeños	,950	,535	1,689
Para cohorte Tamaño del Hato = Grande	1,029	,756	1,400
N de casos válidos	400		

Fuente: Autores

El análisis de oportunidad, Odds ratio (0,924), indica que las vacas de hatos pequeños y grandes tienen la misma oportunidad para presentar anticuerpos para MAP. Por tanto, el factor de riesgo tamaño del hato no tiene impacto en el estatus serológico. Las vacas de hatos pequeños tienen la misma oportunidad para presentar o no presentar anticuerpos para MAP.



Regresión logística

Tabla 13: Resumen de procesamiento de casos.

Casos sin ponderar		N	Porcentaje
Casos seleccionados	Incluido en el análisis	400	65,9
	Casos	207	34,1
	Perdidos	607	100,0
	Total	0	,0
Casos no seleccionados		607	100,0
Total			

Fuente: Autores

Tabla 14: Codificación de variable dependiente

Valor original	Valor interno
Positivo	0
Negativo	1

Fuente: Autores

**Tabla 15:** Codificación de variable categórica

		Frecuencia	Codificación de parámetro (1)
Presencia	No	361	1,000
Diarrea	Si	39	,000
Tamaño del Hato	Pequeños	146	1,000
	Grande	254	,000

Fuente: Autores

Tabla 16: Variables en la Ecuación

		B	Error estándar	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1^a	Edad2	,100	,114	,769	1	,380	1,105
	Tamaño (1)	-,022	,510	,002	1	,966	,979
	Salud (1)	3,416	,503	46,109	1	,000	30,445
	Constante	-,140	,786	,032	1	,859	,870

Fuente: Autores

a. Variables especificadas en el paso 1: edad2, tamaño, salud.

El análisis estadístico indica que existe asociación entre el estado de salud y la seropositividad a *Mycobacterium paratuberculosis*, por lo que se esperaría tener una mayor prevalencia en vacas que presentan diarrea como signo clínico.

El Odds ratio 30,445 indica que existe una relación de 30:1 entre los animales con diarrea y los que no presentan diarrea frente a la presencia de anticuerpos con un 96 % de seguridad.



El análisis de regresión logística indica que el factor más importante a considerar para el diagnóstico y para establecer grupos de riesgo son los animales que presentan diarrea.

Ilustración 1: Estatus serológico en relación al estado de salud, presencia de diarrea, (sí o no)

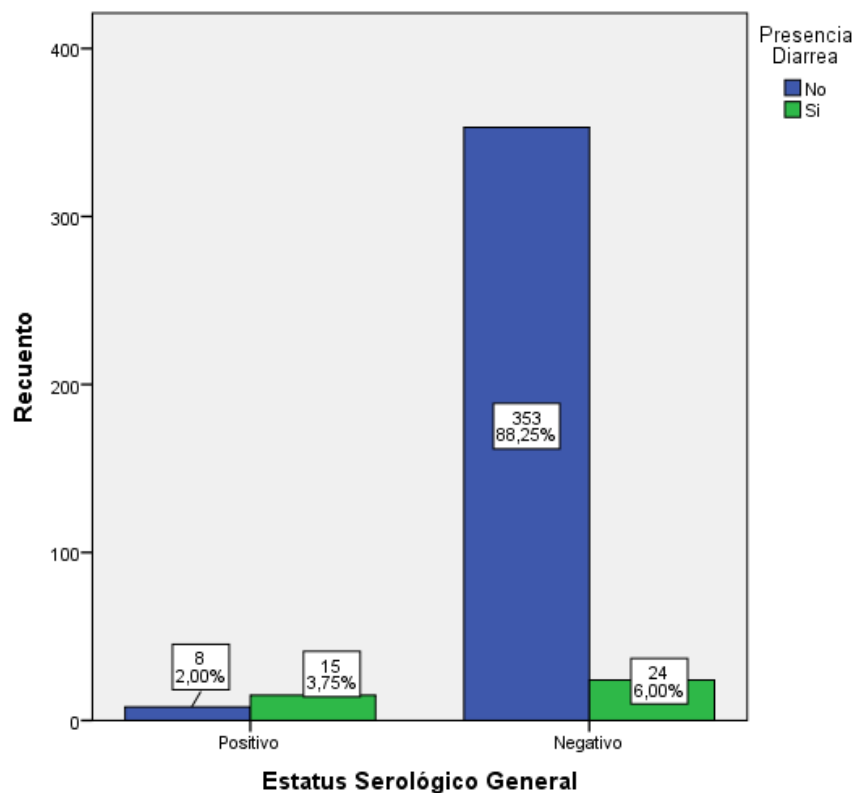
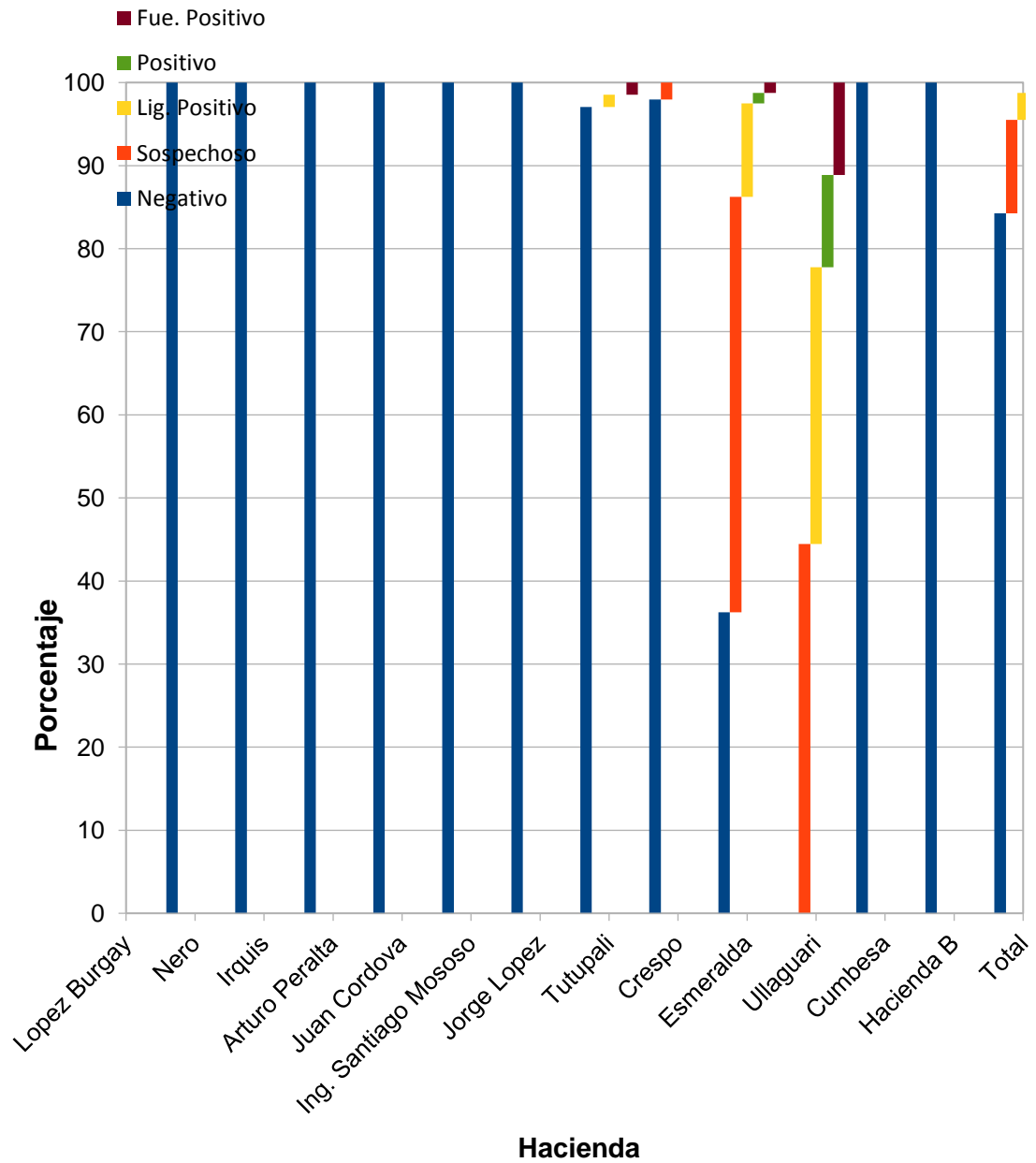




Ilustración 2: Porcentajes del estatus serológico correspondientes a cada hacienda





CAPITULO V

5. DISCUSIONES

El propósito de esta investigación fue determinar la prevalencia de animales seropositivos frente a Map en vacas lecheras de 13 diferentes hatos del sur del Ecuador. Mediante el uso de ELISA Indirecto. Obtuvimos una prevalencia de 6 %, en 23 sueros positivos de un total de 400 muestras seleccionadas al azar, resultados similares a los presentados por otros autores.

En el Cantón Mejía, provincia de Pichincha, de la sierra norte del Ecuador, bajo la misma técnica de muestreo y diagnóstico, donde se evaluaron 384 sueros sanguíneos seleccionados al azar se obtuvieron como resultado 28 muestras positivas (7.29%), y 5 sueros sospechosos (1.35%), el resto correspondiente a 351 sueros negativos (91.39%) (Oña & Cajilema, 2012).

En las parroquias Cumbe y Victoria del Portete de Provincia del Azuay, con el uso de DPP Aviar intradérmica, de un total de 432 animales inoculados se obtuvo una prevalencia 6.02% (Sanchez, 1991). Bajo las condiciones de manejo de los animales, el número muestral y el uso de técnicas de inmunoensayo, no se observa diferencias significativas en los resultados de estas dos investigaciones, frente a nuestro estudio realizado en Azuay y Cañar.

Las pruebas de ELISA indirecto y DPP aviar demuestran repetitividad en los resultados, se podrían usar indistintamente en programas de control. Según estos resultados la prevalencia de anticuerpos para MAP es similar en las condiciones de manejo y geográficas de los hatos lecheros de la sierra norte y sur del Ecuador. En



este y otros trabajos la variable edad no demostró estar asociada con fuerza a la presencia de anticuerpos (Sánchez, 1991; Cajilema 2012).

En Argentina la seroprevalencia en bovinos lecheros varía entre el 7.2 % y 20 %, (Martinis, Cicuta, Boehringer, Morsella, & Paolicchi, 2003), en este trabajo se usó también inmunoensayo enzimático. Es posible que la prevalencia regional se encuentre alrededor de este intervalo.

En EEUU un 40% de los rodeos formados por más de 300 cabezas están infectados (entre 11 y 18% de portadores subclínicos), mientras que en Europa la prevalencia oscila entre un 7 a 55%, debido a las condiciones de manejo y crianza (Ávila *et al.*, 2005)

En nuestro trabajo se estableció que existe asociación estadística entre las vacas con diarrea y la presencia de anticuerpos para MAP, esta podría ser espuria debido al muestreo aleatorio simple no probabilístico, ya que el análisis de oportunidad, Odds ratio, indica que las vacas con y sin diarrea tienen la misma oportunidad de presentar anticuerpos para MAP.

El análisis de regresión logística indicó que el estado de salud, la ocurrencia o no de diarrea, es el factor más importante en relación a la frecuencia de anticuerpos para MAP de los animales en estudio. Esto tiene concordancia con la patología de esta enfermedad ya que la diarrea se considerada un síntoma característico, y un factor de suma importancia en la propagación de MAP. El análisis de su impacto debería ser considerado bajo un estudio de casos y controles.



CAPÍTULO VI

6. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados y los resultados obtenidos se llega a las siguientes conclusiones:

1. Según el análisis estadístico, (chi cuadrado) no existe relación directa entre la edad de los animales y el tamaño del hato y la presencia de anticuerpos para MAP.
2. En las vacas con diarrea se presentó la mayor prevalencia.
3. Las vacas con y sin diarrea tienen la misma oportunidad de presentar o no anticuerpos para MAP.
4. La prevalencia está ligada a factores de manejo como la crianza de terneras y la falta de medidas de diagnóstico y control.
5. La prevalencia total de MAP en los hatos lecheros estudiados en este trabajo pertenecientes a las provincias de Azuay y Cañar del Sur del Ecuador es del 6%.
6. La prevalencia que se obtuvo en Cañar es del 8.72% y en Azuay es de 3.98%.
7. La presencia de MAP se ha mantenido estable durante 25 años, esto dentro de las limitantes del tamaño de la muestra y las técnicas indirectas de diagnóstico usadas, donde no ha sido posible el aislamiento del agente infeccioso.



CAPITULO VII

7. RECOMENDACIONES

1. Establecer programas de diagnóstico y control, con la finalidad de disminuir la prevalencia en las provincias de la sierra sur del Ecuador.
2. Debido a la baja especificidad (94%) y sensibilidad (80%) de las pruebas de ELISA los hatos deben realizar controles anuales para la identificación de reactores positivos.
3. Integrar pruebas de laboratorio, como PCR y medios de cultivo entre los más utilizados son: el medio de Herrold con yema de huevo con micobactina (HEYM), los medios Middlebrook 7H9, 7H10 y 7H11, que confirmen la presencia de MAP con el análisis de leche y heces.
4. Difundir los resultados sobre la prevalencia, el riesgo y la significación sanitaria y económica de esta enfermedad.
5. Realizar trabajos dirigidos a los animales que presenten diarrea crónica con el fin de determinar la implicación real de este patógeno, en un enfoque de casos y controles.



CAPITULO VIII

8. BIBLIOGRAFIA

- Actualidad Ganadera. (2014). Paratuberculosis Bovina. La Revista del Sector Ganadero, 7-11.
- Albeitar. (2005). Epidemiología e importancia económica de la paratuberculosis bovina. Portal Veterinario Albeitar. Recuperado el 11 de marzo de 2015, de <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3519/articulos-rumiantes-archivo/epidemiologia-e-importancia-economica-de-la-paratuberculosis-bovina.html>
- Avila, Cruz, & Blando. (2005). Paratuberculosis. Clinica de los Bovinos I, 1-11.
- Bernardelli, A. (2000). Manual de procedimiento tecnico -Diagnostico de Paratuberculosis. SENASA, 14-39.
- Blood, D., & Radostis, O. (s.f.). MEDICINA VETERINARIA. Interamericana. MC.GRAW-HILL.
- Cahmberlin, W., Graham, D., Hulten, K., El-Zimaity, H., Schwartz, M., Naser, S., . . . El-Zaatari, F. (2001). Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis as one cause of Crohn's disease. Medline, 337-346.
- Castellanos. (9 de Julio de 2010). Caracterización molecular de aislados de Mycobacterium avium subespecie paratuberculosis. Universidad Complutense de Madrid, 59-68. Obtenido de Caracterización molecular de aislados de Mycobacterium avium subespecie paratuberculosis.
- Chacon, Bermudez, & Barletta. (2004). Johne's disease, inflammatory bowel disease, and Mycobacterium paratuberculosis. Annual Review of Microbiology, 329-363.



Cirone, Morsella, Romano, & Paolicchi. (25 de Enero de 2007). Revista argentina de microbiologia. Scielo.

Collins. (5 de Noviembre de 2013). Overview of Paratuberculosis. Obtenido de The

Merck Veterinary Manual:

http://www.merckvetmanual.com/mvm/generalized_conditions/paratuberculosis/overview_of_paratuberculosis.html?qt=paratuberculosis%20bovina&alt=sh

Collins, & Manning. (3 de Marzo de 2010). Johne's Information Center. University of

Wisconsin. Obtenido de University of Wisconsin-Madison School of Veterinary

Medicine: <http://www.johnes.org/general/epidemiology.html>

Committee on Diagnosis and Control of Johne's Disease; Board on Agriculture and

Natural Resources; Division on Earth and Life Studies; National Research

Council. (2003). Diagnosis and Control of Johne's Disease . Washington:

National Academy of Sciences.

Couseens, P. (2 de Diciembre de 2001). Mycobacterium paratuberculosis and the

bovine immune system. Obtenido de PubMed.gov -USA National Library of

Medicine: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11831436>

Deb, R., & Kumar, V. (2011). Conventional vs. Recombinant Antigen Based Detection

of Mycobacterim avium subspecies paratuberculosis Infection in Animals. Vet

Scan. Obtenido de [http://www.vetscan.co.in/v6n1/75-Conventional-](http://www.vetscan.co.in/v6n1/75-Conventional-Recombinant-antigen-based-detection-Mycobacterim-avium-subspecies-paratuberculosis-infection-animals.htm)

[Recombinant-antigen-based-detection-Mycobacterim-avium-subspecies-](http://www.vetscan.co.in/v6n1/75-Conventional-Recombinant-antigen-based-detection-Mycobacterim-avium-subspecies-paratuberculosis-infection-animals.htm)

[paratuberculosis-infection-animals.htm](http://www.vetscan.co.in/v6n1/75-Conventional-Recombinant-antigen-based-detection-Mycobacterim-avium-subspecies-paratuberculosis-infection-animals.htm)



- Disney, & Regino. (2005). Paratuberculosis: una amenaza emergente para la ganadería tropical. Manual de Ganadería Doble Propósito., 370-376.
- Dorshorst, Collins, & Lombard. (2006). Decision analysis model for paratuberculosis. ELSEVIER, 92-122.
- Espinosa, O. O. (octubre de 2007). El contexto actual de la medicina veterinaria. Costa Rica.
- Gasque. (2008). Paratuberculosis. Mexico: ISBN 978-970-32-4359-4.
- Gilardoni, Paolicchi, & Mundo. (2012). Bovine paratuberculosis: a review of the advantages and disadvantages of different diagnostic tests. Scielo, 201-215.
- Groenendaal, Zagmutt, & Patton. (2015). Cost-benefit analysis of vaccination against Mycobacterium Avum ssp.paratuberculosis n dairy cattle, given its cross-reactivity with tuberculosis tests. Journal of Dairy Science, 6070-6084.
- Harris, N., & Barletta, R. (2001). Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in Veterinary Medicine. Clinical Microbiology Reviews, 489–512.
- Hasonova, & Pavlik. (2006). Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a review. Veterinary Medicine, 193-211.
- Holzmann, C., Jorge, M., Traversa, M., Schettino, D., Medina, L., & Bernardelli, A. (2004). Estudio del comportamiento epidemiológico de la paratuberculosis bovina mediante series cronológicas en Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz, 791-799.
- INFOPLAN. (2005). Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Azuay.
- Iowa state university. (Abril de 2007). Paratuberculosis. Institute for International Cooperation in Animl Biologics, 1-8. Recuperado el 21 de febrero de 2015, de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/paratuberculosis.pdf>



- Iowa State University. (2010). Paratuberculosis. The Center for Food Security and Public Health, 1-8.
- IRHA. (2006). Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Azuay.
- Jorge, M., Traversa, M., Schettino, D., Fresneda, K., & Mendivil, M. (2005). Epidemiologia e Impórtancia Economica de la Paratuberculosis Bovina. Produccion Animal, 1-7.
- Linnabary, R., Meerdink , G., Collins, M., Stabel, J., Sweeney, R., Washington, M., . . . Whitlock, R. (2001). JOHNE'S DISEASE IN CATTLE. COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2-9.
- Lombard, J. (2011). Epidemiology and Economics of Paratuberculosis. Vet Clin Food Anim, 525-535.
- MAGAP. (2002). Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Azuay.
- Maria, Daniel, Fresneda, & Ipaguirre. (25 de noviembre de 2005). Epidemiologia e importanciaEconomica de la Paratuberculosis. Recuperado el 10 de marzo de 2015, de Infograngas: <http://www.infogranjas.com.ar/bovinos/epidemiologia-e-importancia-economica-de-la-paratuberculosis-bovina>
- Martínez , A., Santillán , M., Guzmán , C., Favila , L., Córdova , D., Díaz , E., . . . Blanco, M. (marzo de 2012). Desarrollo de un inmuno–ensayo enzimático (ELISA) para el diagnóstico de paratuberculosis en bovinos. Revista Mexicana de Ciencias pecuarias, 3(1).
- Martinis, Cicuta, Boehringer, Morsella, & Paolicchi. (2003). La Paratuberculosis y los Bovinos Lecheros de la Provincia Corrientes. Argentina: UNNE.
- Mundo, S. (2008). Paratuberculosis Bovina. Infovet -Sitio Argentino de Produccion Animal, 11-14.



- Nielsen, S. (2009). Programmes on Paratuberculosis in Europe. University of Copenhagen, 101-106.
- OIE. (2008). Paratuberculosis. Manual de la OIE sobre animales terrestres, 2-4. Obtenido de Paratuberculosis - enfermedad de Johne.
- Oña, D., & Cajilema, M. (5 de septiembre de 2012). Universidad Central del Ecuador. Recuperado el 10 de Enero de 2015, de Diagnostico serologico de paratuberculosis mediante elisa indirecta en vacas lecheras del canton mejia: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/347>
- Ott, Wells, & Wagner. (1999). Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations. PUBMED, 179-192.
- Otto, Clive, Henneth, & Blood. (2001). Tratado de las Enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino. Buenos Aires: Mc Graw-Hill Interamerican.
- Paolicchi, F., & Romano, M. (2010). Paratuberculosis. Microbiologia Veterinaria. Obtenido de http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Prod_Animal/Documentos/2012/Sanidad%20Ganadera/2_42_ParaTBC%20ultima%20version.pdf
- Prieto, M. (2010). Paratuberculosis Bovina-Diagnostico y control. Tecnologia Agroalimentaria, 39-43.
- Retamal, Beltran, Abalos, Quera, & Hermoso. (2011). Mycobacterium avium subsp paratuberculosis y enfermedad de Crohn: evidencias de una zoonosis. Revista Medica de Chile, 794-801.
- Reza, L., & Rojas, C. (2 de Agosto de 2008). Paratuberculosis. Sinaloa, Culiacan, Mexico. Obtenido de <http://es.slideshare.net/curavacas48/paratuberculosis>



- Sanchez, L. (1991). Determinacion de praturerculosis Bovina mediante DPP Aviar Intradermica en las parroquias Cumbe y Victoria del Portete. Cuenca.
- Stabel, Sweeney, Washington, & Wells. (2005). Association Between Johne's Disease. Microbiological Review - Food Standards Australia New Zealand, 4-21.
- United States Department of Agriculture. (2013). El costo de la Paratuberculosis Bovina al sector lechero. Revista Veterinaria Argentina, 1-14.
- Waard, J. (2010). Milking mycobacteria from cattle? Health and economic impact. REVISTA MVZ CÓRDOBA, 2037-2040.
- Whan, L., Grant, I., Ball, H., Scot, R., & Rowe, M. (2001). Bactericidal effect of chlorine on Mycobacterium paratuberculosis in drinking water. Letteres in Applied Microbiology, 227-231.
- Whitlock, & Buergelt. (12 de Julio de 1996). Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis (including pathology). Obtenido de PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8828109>
- Xia. (26 de 05 de 1993). Boster antibody and Elisa experts. Obtenido de ELISA Kits , ELISA Principle - Immunoassays: <https://www.bosterbio.com/protocol-and-troubleshooting/elisa-principle>
- Zapata, Rodas, & Maldonado. (2008). Paratuberculosis bovina: ¿conocemos la situación real de la enfermedad en la ganadería colombiana? Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 420-435.



CAPITULO IX

ANEXOS

ANEXO 1: FOTOGRAFIAS DE CAMPO:

1.1 TOMA DE MUESTRAS EN DIFERENTES HACIENDAS:





1.2 VARIOS ANIMALES MUESTREADOS CON PRESCENCIA DE DIARREA:



1.3 RECOLECTA DE MUESTRAS:





ANEXO 2: FOTOGRAFIAS DE LABORATORIO

2.1 KIT de diagnóstico (Elisa Indirecto) PARACHEK 2 para detección de anticuerpos frente a MAP



2.2 Conjugado diluyente Azul

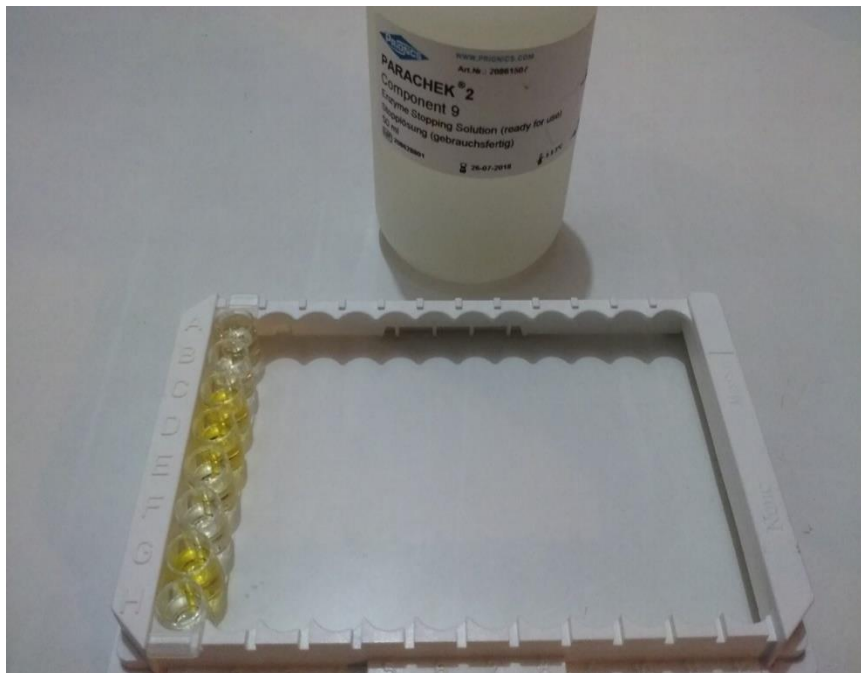




2.3 Diluyente Verde

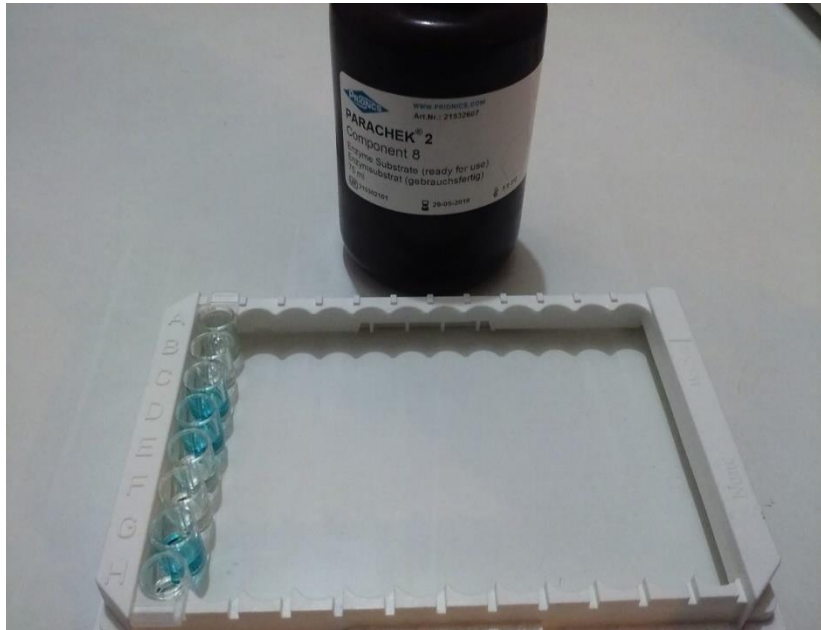


2.4 Solución STOP





2.5 Solución de Sustrato



2.6 Lector de Resultados





ANEXO 3: RESULTADOS DE LABORATORIO CORRESPONDIENTES A CADA HACIENDA



SEROLOGIA

Fecha: 23 de mayo de 2016

Orden N°: 347

Propietario: TUTUPALI
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (33)
N° Muestras analizadas: (20)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
06	1	Negativo
LOLA	0	Negativo
COLITA	0	Negativo
3696	1	Negativo
SHAKIRA	1	Negativo
TERESA	1	Negativo
SUSY	2	Negativo
TIMBIRICHI	1	Negativo
RUTH	2	Negativo
CHOLA	1	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
CATY	1	Negativo
ROSALIA	31	POSITIVO
MONICA	1	Negativo
MARCIA	0	Negativo
CARETA	2	Negativo
05	5	Negativo
3698	0	Negativo
JULIA	1	Negativo
COLORINA	1	Negativo
MELIDA	1	Negativo



SEROLOGIA

Fecha: 23 de mayo de 2016

Orden N°: 377

Propietario: TUTUPALI
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (41)
N° Muestras analizadas: (25)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
2353	1	Negativo
HADA	1	Negativo
CARNAVAL	3	Negativo
ANDREA	1	Negativo
96417	4	Negativo
FLORENCIA	1	Negativo
2260	1	Negativo
2238	1	Negativo
528	1	Negativo
2159	4	Negativo
2134	1	Negativo
ALBA	0	Negativo
2070	1	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
CREBETT	113	POSITIVO
460	1	Negativo
2379	1	Negativo
NORMANDIA	0	Negativo
2127	1	Negativo
2226	1	Negativo
4.31	7	Negativo
782	1	Negativo
82327	3	Negativo
337	1	Negativo
2083	1	Negativo
COLIBRI	1	Negativo



SEROLOGIA

Fecha: 26 de mayo de 2016

Orden N°: 367

Propietario: TUTUPALI
A petición de: Srta. Andrea PeñalozaN° Total Muestras: (38)
N° Muestras analizadas: (23)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
ANDURIL	0	Negativo
TABU	0	Negativo
COCINERA	1	Negativo
2167	6	Negativo
507	1	Negativo
2322	1	Negativo
2462	1	Negativo
NORTENA	2	Negativo
2158	1	Negativo
2157	0	Negativo
JORDANIA	1	Negativo
71	2	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
VERONICA	3	Negativo
2117	2	Negativo
2320	2	Negativo
2287	2	Negativo
9308	1	Negativo
2345	0	Negativo
CAROLA	3	Negativo
2185	3	Negativo
521	2	Negativo
791	2	Negativo
2204	2	Negativo

Estos resultados son válidos solo para las muestras analizadas
Y deben ser evaluados en su contexto clínico por un médico veterinario.

SEROLOGIA

Fecha: 21 de mayo de 2016

Orden N°: 360

Propietario:
A petición de: Srta. Andrea PeñalozaN° Total Muestras: (79)
N° Muestras analizadas: (49)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
30	0	Negativo
306	0	Negativo
318	0	Negativo
393	1	Negativo
454	1	Negativo
468	0	Negativo
473	1	Negativo
482	1	Negativo
486	0	Negativo
496	2	Negativo
512	1	Negativo
525	1	Negativo
530	1	Negativo
545	1	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
546	0	Negativo
549	0	Negativo
550	0	Negativo
554	0	Negativo
556	1	Negativo
557	1	Negativo
561	0	Negativo
563	1	Negativo
571	1	Negativo
573	0	Negativo
575	0	Negativo
579	0	Negativo
584	0	Negativo
585	1	Negativo

Estos resultados son válidos solo para las muestras analizadas
Y deben ser evaluados en su contexto clínico por un médico veterinario.



SEROLOGIA

Fecha: 23 de mayo de 2016

Orden N°: 368

Propietario: NERO
A petición de: Srta. Andrea PeñalozaN° Total Muestras: (50)
N° Muestras analizadas: (31)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
321	4	Negativo
347	1	Negativo
383	3	Negativo
396	4	Negativo
392	0	Negativo
395	1	Negativo
352	0	Negativo
502	2	Negativo
393	1	Negativo
386	1	Negativo
374	5	Negativo
404	1	Negativo
222	2	Negativo
398	6	Negativo
320	2	Negativo
311	2	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
335	0	Negativo
382	1	Negativo
390	2	Negativo
339	2	Negativo
333	1	Negativo
397	2	Negativo
429	2	Negativo
356	5	Negativo
400	1	Negativo
354	1	Negativo
426	1	Negativo
336	2	Negativo
404	1	Negativo
425	0	Negativo
374	1	Negativo

Estos resultados son válidos solo para las muestras analizadas
Y deben ser evaluados en su contexto clínico por un médico veterinario.

SEROLOGIA

Fecha: 23 de mayo de 2016

Orden N°: 369

Propietario: IRQUIS
A petición de: Srta. Andrea PeñalozaN° Total Muestras: (30)
N° Muestras analizadas: (18)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
401	1	Negativo
377	0	Negativo
237	1	Negativo
351	1	Negativo
513	1	Negativo
360	1	Negativo
243	1	Negativo
384	0	Negativo
390	1	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
154	1	Negativo
329	1	Negativo
412	1	Negativo
206	0	Negativo
420	0	Negativo
356	1	Negativo
369	1	Negativo
171	1	Negativo
337	0	Negativo



SEROLOGIA

Fecha: 23 de mayo de 2016

Orden N°: 374

Propietario: Sr. Arturo Peralta
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (11)
N° Muestras analizadas: (7)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
158	1	Negativo
486	1	Negativo
305	1	Negativo
193	1	Negativo
151	0	Negativo
87	0	Negativo
2	1	Negativo



SEROLOGIA

Fecha: 23 de mayo de 2016

Orden N°: 375

Propietario: Sr. Juan Carlos Cordova
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (29)
N° Muestras analizadas: (17)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
MELIZA	2	Negativo
MARIANA	1	Negativo
CASANDRINA	2	Negativo
PAOLA	1	Negativo
ROS	2	Negativo
SUSTAG	4	Negativo
DIANA	1	Negativo
MERCEDES	2	Negativo
KASANDRA	1	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
ROCIO	1	Negativo
CLARITA	2	Negativo
LUCIA	1	Negativo
PAZ	1	Negativo
CATALINA	1	Negativo
ANA	2	Negativo
SELENA	1	Negativo
JANETH	1	Negativo



UNIVERSIDAD DE CUENCA

DIAGNOSTICO Y SALUD ANIMAL

SEROLOGIA

Fecha: 23 de mayo de 2016

Orden N°: 382

Propietario: Ing. Santiago Moscoso
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (33)
N° Muestras analizadas: (20)

PRUEBA Identificación	MPT ELISA Test	
	P.P	Resultado
416	2	Negativo
362	1	Negativo
419	2	Negativo
370	2	Negativo
336	2	Negativo
409	2	Negativo
337	1	Negativo
410	3	Negativo
387	2	Negativo
415	3	Negativo

PRUEBA Identificación	MPT ELISA Test	
	P.P	Resultado
414	2	Negativo
402	3	Negativo
296	2	Negativo
381	2	Negativo
352	2	Negativo
344	2	Negativo
403	1	Negativo
319	1	Negativo
406	2	Negativo
339	1	Negativo



SEROLOGIA

Fecha: 21 de mayo de 2016

Orden N°: 383

Propietario:
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (129)
N° Muestras analizadas: (80)

PRUEBA Identificación	MPT ELISA Test	
	P.P	Resultado
421	25	POSITIVO
416	19	POSITIVO
419	11	Negativo
2204	8	Negativo
1235	9	Negativo
349	11	Negativo
2434	16	POSITIVO
084	11	Negativo
964	7	Negativo
250	12	Negativo
4532	7	Negativo
1212	18	POSITIVO
1272	20	POSITIVO
1032	10	Negativo
4523	12	Negativo

PRUEBA Identificación	MPT ELISA Test	
	P.P	Resultado
482	9	Negativo
216	22	POSITIVO
927	19	POSITIVO
242	11	Negativo
480	8	Negativo
321	13	Negativo
437	29	POSITIVO
8021	6	Negativo
161X	5	Negativo
005	30	POSITIVO
1012	27	POSITIVO
176	21	POSITIVO
389	8	Negativo
1995	10	Negativo
2440	6	Negativo



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fecha: 21 de mayo de 2016

Orden N°: 383

Propietario:

N° Total Muestras: (129)

A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Muestras analizadas: (80)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
495	8	Negativo
097	11	Negativo
2421	9	Negativo
989	13	Negativo
333	14	Negativo
H080	8	Negativo
422	7	Negativo
444	11	Negativo
2411	11	Negativo
199	12	Negativo
1314	7	Negativo
H011	6	Negativo
H050	13	Negativo
428	6	Negativo
356	13	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
098	7	Negativo
107	6	Negativo
8350	21	POSITIVO
464	13	Negativo
076	7	Negativo
5286X	5	Negativo
537	8	Negativo
343	10	Negativo
992	9	Negativo
8010	10	Negativo
388	5	Negativo
2168	12	Negativo
485	13	Negativo
372	10	Negativo
H027	10	Negativo

SEROLOGIA

Fecha: 21 de mayo de 2016

Orden N°: 383

Propietario:

N° Total Muestras: (129)

A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Muestras analizadas: (80)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
135	4	Negativo
8017	10	Negativo
463	8	Negativo
H069	103	POSITIVO
1287	8	Negativo
283	0	Negativo
133	1	Negativo
H006	0	Negativo
440	11	Negativo
269	14	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
391	10	Negativo
H048	10	Negativo
2444	12	Negativo
2388	5	Negativo
378	11	Negativo
H022	11	Negativo
423	14	Negativo
2215	15	Negativo
383	10	Negativo
SN	12	Negativo



UNIVERSIDAD DE CUENCA

SEROLOGIA

Fecha: 23 de mayo de 2016

Orden N°: 393

Propietario: Dr. Jorge Vélez
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (38)
N° Muestras analizadas: (24)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
610	1	Negativo
588	1	Negativo
634	1	Negativo
654	1	Negativo
097	1	Negativo
579	1	Negativo
159	2	Negativo
571	1	Negativo
528	1	Negativo
074	1	Negativo
648	2	Negativo
AB142	3	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
613	2	Negativo
667	1	Negativo
577	1	Negativo
638	22	POSITIVO
586	1	Negativo
645	0	Negativo
888	1	Negativo
143-1	2	Negativo
662	1	Negativo
492	1	Negativo
158	1	Negativo
143-2	0	Negativo



SEROLOGIA

Fecha: 21 de mayo de 2016

Orden N°: 399

Propietario:
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (15)
N° Muestras analizadas: (9)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
55	20	POSITIVO
61	14	Negativo
62	18	POSITIVO
64	12	Negativo
65	25	POSITIVO
67	24	POSITIVO
70	34	POSITIVO
73	97	POSITIVO
5343	94	POSITIVO



SEROLOGIA

Fecha: 26 de mayo de 2016

Orden N°: 401

Propietario: Hacienda López Burgay
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (15)
N° Muestras analizadas: (9)

PRUEBA Identificación	MPT ELISA Test	
	P.P	Resultado
DORITA	1	Negativo
RUTH	2	Negativo
75	1	Negativo
1945	2	Negativo
1946	3	Negativo
1953	2	Negativo
1965	1	Negativo
SN ROJA	2	Negativo
SN VACONA	2	Negativo



SEROLOGIA

Fecha: 21 de mayo de 2016

Orden N°: 402

Propietario:
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (18)
N° Muestras analizadas: (11)

PRUEBA Identificación	MPT ELISA Test	
	P.P	Resultado
6635	1	Negativo
6463	1	Negativo
6453	1	Negativo
1663	5	Negativo
6440	0	Negativo
101	2	Negativo
6644	8	Negativo
48	1	Negativo
6459	1	Negativo
3995	1	Negativo
102	2	Negativo



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Propietario: CUMBESA
A petición de: Srta. Andrea Peñaloza

N° Total Muestras: (93)
N° Muestras analizadas: (57)

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
0346	2	Negativo
498	2	Negativo
1255	1	Negativo
0403	2	Negativo
535	2	Negativo
450	2	Negativo
0427	2	Negativo
356	2	Negativo
0408	2	Negativo
0264	2	Negativo
1269	2	Negativo
0213	2	Negativo
0315	2	Negativo
599	2	Negativo
PASIO	2	Negativo
464	2	Negativo
0342	2	Negativo
1280	2	Negativo
697	2	Negativo

PRUEBA	MPT ELISA Test	
Identificación	P.P	Resultado
497	1	Negativo
616	3	Negativo
508	1	Negativo
0210	2	Negativo
575	2	Negativo
0260	1	Negativo
0431	2	Negativo
606	3	Negativo
0206	3	Negativo
536	3	Negativo
0203	2	Negativo
601	2	Negativo
453	2	Negativo
1277	0	Negativo
1274	2	Negativo
1261	2	Negativo
0235	2	Negativo
0769	3	Negativo
644	2	Negativo



ANEXO 4: METODO DE LA OIE PRESCRITO EN EL DIAGNOSTICO DE PARATUBERCULOSIS.

Capítulo 1.3. - Pruebas de diagnóstico prescritas y de sustitución para las enfermedades de la lista de la OIE

Capítulo del Código Terrestre	Capítulo del Manual Terrestre	Enfermedad	Pruebas prescritas	Pruebas de sustitución
Enfermedades de la lista de la OIE				
Enfermedades comunes a varias especies				
8.2.	2.1.2.	Enfermedad de Aujeszky	ELISA, VN	–
8.8.	2.1.9.	Leptospirosis	–	MAT
8.11.	2.1.13.	Rabia	VN, ELISA	–
8.10.	2.1.11.	Paratuberculosis	–	DTH, ELISA
8.6.	2.1.6.	Cowdriosis	–	ELISA, IFA
8.9.	2.1.10.	Miasis por <i>Cochliomyia hominivorax</i> y miasis por <i>Chrysomya bezziana</i>	–	Agent id.
8.14.	2.1.16.	Triquinelosis	Agent id.	ELISA
8.5.	2.1.5.	Fiebre aftosa	ELISA ¹ , VN	CF
8.16.	2.1.19.	Estomatitis vesicular	CF, ELISA, VN	–
8.13.	2.1.15.	Peste bovina	ELISA	VN
8.3.	2.1.3.	Lengua azul	Agent id., ELISA, PCR	AGID, VN
8.12.	2.1.14.	Fiebre del Valle del Rift	VN	HI, ELISA
8.15.	2.1.18.	Tularemia	–	Agent id.



ANEXO 5: RESULTADOS ESTATUS SEROLÓGICO FRENTE AL ESTADO DE SALUD

Cuadro 5.1 Estatus Serológico General*Presencia Diarrea tabulación cruzada

Recuento

		Presencia Diarrea		Total
		No	Si	
Estatus Serológico General	Positivo	8	15	23
	Negativo	353	24	377
Total		361	39	400

ANEXO 6: RESULTADOS ESTATUS SEROLÓGICO FRENTE A EDAD

Cuadro 6.1: Estatus Serológico General*Edad Vacas tabulación cruzada

Recuento

	Edad Vacas		Total
	Jóvenes	Adultas	
Estatus serológico	1	22	23
Positivo			
General	66	311	377
Negativo			
	67	333	400
Total			



ANEXO 7: RESULTADO ESTATUS SEROLÓGICO FRENTE AL TAMAÑO DEL HATO

Cuadro 7.1 Estatus Serológico General*Tamaño del Hato tabulación cruzada

Recuento

		Tamaño del Hato		Total
		Pequeños	Grande	
Estatus Serológico General	Positivo	8	15	23
	Negativo	138	239	377
Total		146	254	400